

Marcelo Betancur Agudelo

**OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES E CARACTERIZAÇÃO DA SIMBIOSE EM  
MILHO CRIOULO, HÍBRIDO CONVENCIONAL E  
TRANSGÊNICO NO OESTE DE SANTA CATARINA, BRASIL**

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós Graduação em Recursos Genéticos  
Vegetais da Universidade Federal de  
Santa Catarina para a obtenção do  
título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Emílio  
Lovato

Florianópolis  
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Betancur, Marcelo Agudelo  
OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E  
CARACTERIZAÇÃO DA SIMBIOSE EM MILHO CRIULO, HÍBRIDO  
CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO NO OESTE DE SANTA CATARINA,  
BRASIL / Marcelo Agudelo Betancur ; orientador, Paulo  
Emílio Lovato - Florianópolis, SC, 2016.  
98 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós  
Graduação em Recursos Genéticos Vegetais.

Inclui referências

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. Micorriza. 3.  
Associação. 4. Solo. 5. Zea Mays. I. , Paulo Emílio Lovato.  
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

**Ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares  
e caracterização da simbiose em milho crioulo,  
híbrido convencional e transgênico no Oeste de  
Santa Catarina, Brasil**

por

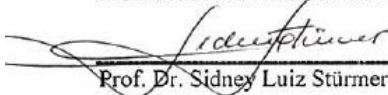
**Marcelo Betancur Agudelo**

Dissertação julgada e aprovada em 25/02/2016, em sua forma final,  
pelo Orientador e Membros da Banca Examinadora, para obtenção  
do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração Recursos  
Genéticos Vegetais, no Programa de Pós-Graduação em Recursos  
Genéticos Vegetais, CCA/UFSC.

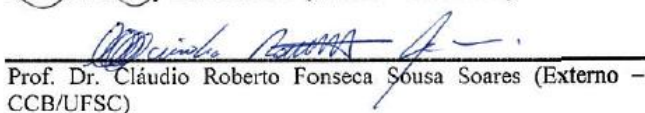
Banca Examinadora:



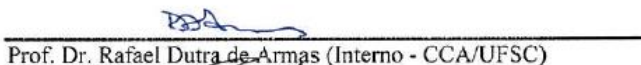
Prof. Dr. Paulo Emílio Lovato (Presidente - CCA/UFSC)



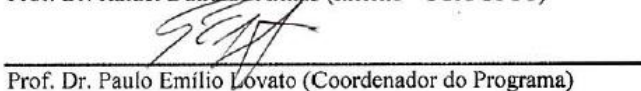
Prof. Dr. Sidney Luiz Stürmer (Externo - FURB/SC)



Prof. Dr. Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares (Externo -  
CCB/UFSC)



Prof. Dr. Rafael Dutra de Armas (Interno - CCA/UFSC)



Prof. Dr. Paulo Emílio Lovato (Coordenador do Programa)

Florianópolis, fevereiro de 2016



## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luz Amparo Agudelo e Leonidas Betancur, pelo amor incondicional, e incentivo na minha formação como pessoa.

Aos agricultores do Oeste de Santa Catarina, nos municípios de Anchieta, Bandeirante, Barra Bonita, Romelândia e São Miguel do Oeste.

Ao Professor Paulo Emilio Lovato, pela orientação, confiança e amizade.

Aos Professores Cláudio Roberto Fonseca de Sousa Soares, Sidney Luiz Stürmer, Rafael Dutra de Armas, Malva Isabel Medina e Admir José Giachini por sua disposição e ajuda no meu trabalho.

À CAPES, pela bolsa concedida.

Ao CNPq, pelo financiamento do trabalho.

À Coordenação do PPG-Recursos Genéticos Vegetais e à UFSC, pela oportunidade, em especial à secretária Bernadete Ribas.

Aos colegas da Cooperativa “OESTEBIO”, em especial Anderson Muranini, Moises Bacega, Maicon Regginato, Michael Pedersetti, Vinicius Czarnobay, Joel Paini, Joniel Decol, Pamela Mattuella e Daniele Nerling pela sua ajuda no trabalho de campo.

Aos colegas e amigos de Agronomia da UFSC, Nickolas Mendes, Yasmin Hamia e Maria Julia Porfirio pela imensa ajuda e participação nesse trabalho.

A todos os colegas do RGV, em especial do laboratório de “Ecologia do Solo”, Kelly Besen, Vanessa Tedesco, Alceu Kunze, e Marcos Leandro dos Santos, pela amizade, ajuda, convívio e conselhos nos momentos de dúvidas durante este trabalho.

Aos colegas do laboratório de “Ecologia Terrestre Animal” no CCB/UFSC, em especial a Maristela Carpintero, Renata Calixto e Victor Michelin pela sua ajuda e companheirismo em campo.

Aos colegas do laboratório “Análises de Solos e Tecidos Vegetais” no CCA/UFSC, em especial a Matheus Santos, Andria Lima, Lucas Benedet, Janaina Heinzen e Talita Trapp e os professores Jucinei Comin, Arcangelo Loss e Cledimar Lourenzi.

Aos colegas do laboratório de “Diversidade Microbiana do Solo”, no CCB/UFSC, em especial a Diana Morales, David Gonzalez, Shantau Stoffel e Edenilson Meyer.

Aos colegas da Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota da FURB em Blumenau, em especial a Karl Kimmelmeier pela ajuda na identificação dos FMA.

A meu amigo Virgílio Urraota, pela sua ajuda no manejo dos dados.

A todos aqueles que de alguma forma ajudaram na realização desse trabalho muito obrigado.



*Em algum lugar, alguma coisa incrível está  
esperando para ser conhecida. (Carl Sagan)*





## RESUMO

O milho tem grande variabilidade genotípica e é cultivado no Brasil sob diversos tipos de manejo. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) tem sido estudados em culturas dessa espécie, mas pouco se sabe sobre sua diversidade no campo associada a diferentes tipos de milho. O trabalho teve o objetivo de caracterizar a associação dos FMA em três tipos de milho (transgênico, híbrido convencional e crioulo) em lavouras do Oeste Catarinense. Foram analisadas 75 amostras de solo rizosférico e de raízes dos três tipos de milho, no período da floração, quanto às características físico-químicas do solo, associação micorrízica e riqueza de espécies de FMA. Baixos teores de fósforo, valores altos de pH e matéria orgânica e baixa densidade aparente do solo favoreceram maiores taxas de colonização micorrízica e de presença de arbúsculos na raiz. Maiores níveis de fósforo estão determinados pela quantidade de adubação mais que pelo tipo de solo, e são essas características de disponibilidade de fósforo as que explicam melhor as diferenças entre a associação micorrízica nos tipos de milho transgênico, híbrido convencional e crioulo. O número de esporos no solo não apresentou diferenças entre lavouras dos três tipos de milho, mas a riqueza de espécies de FMA foi maior nas lavouras com milho crioulo e híbrido convencional que nas lavouras com milho transgênico. As espécies de FMA dominantes nas lavouras estudadas pertencem às famílias *Acaulosporaceae*, *Glomeraceae* e *Gigasporaceae*, e as espécies *Glomus* sp1, *Glomus* sp2 e *Dentiscutata heterogama*, ocorreram nos três tipos de lavouras. Técnicas associadas à produção orgânica favorecem maior diversidade de FMA e maior eficiência simbiótica em lavouras de milho.

Palavras-chave: Micorrizas, Associação, Riqueza de espécies, Solos, *Zea mays*.



## ABSTRACT

Maize has broad genotypic variability and is grown in Brazil under diverse management systems. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) have been studied in maize crops, but little is known about their diversity in field conditions or associated to different types of this plant species. The aim of this work was to characterize the mycorrhizal symbiosis and AMF associated with three types of maize (genetically modified hybrid, conventional hybrid and a local landrace) in crop fields in West Santa Catarina, Southern Brazil. A total of 75 samples of roots and rhizosphere soil were collected at flowering. Soil physical and chemical attributes mycorrhizal colonization, and AMF species richness were evaluated. Soil low available phosphorus, high pH, high organic matter content, and low apparent density favored higher rates of mycorrhizal colonization and presence of arbuscules in the root. Higher levels of phosphorus, which were conditioned more by fertilizer doses than by soil type, explain the differences in mycorrhizal association in maize types. Mycorrhizal fungal spore numbers did not differ between maize types, but AMF species richness was higher in areas with the landrace and conventional hybrid corn than in areas GM hybrid. AMF dominant species belong to the families, *Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae*, and *Glomeraceae*, and the species *Glomus* sp1, *Glomus* sp2, and *Dentiscutata heterogama* occurred in all three maize types. Techniques associated with organic production promote greater AMF diversity and symbiotic efficiency in field conditions.

Keywords: Mycorrhizas, Species richness, Soil, *Zea mays*,



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa das áreas que foram objeto de amostragem no Oeste de Santa Catarina.....	39
Figura 2. Esquema de coleta das amostras de solo por ponto de amostragem.....	41
Figura 3. Percentagens de arbúsculos (A), vesículas (B), colonização radicular (C), e número de esporos (D) em milho Transgênico (TR), Híbrido convencional (CO) e Crioulo (Cr) em lavouras no Oeste de Santa Catarina.....	47
Figura 4. Análises de correspondência canônica (CCA) das variáveis físico-químicas do solo com as variáveis micorrízicas em três tipos de milho (transgênico, híbrido convencional e crioulo).....	50
Figura 5. Variáveis de associação micorrízica e níveis de fósforo no solo e nas folhas em três tipos de milho no Oeste Catarinense.....	51
Figura 6. Proporção de espécies de fungos micorrízicos arbusculares por família taxonômica nas lavouras de milho Transgênico (TR), Híbrido convencional (CO) e Crioulo (CR).....	55
Figura 7. Ocorrência de espécies de fungos micorrízicos arbusculares nas lavouras de milho Transgênico (TR), Híbrido convencional (CO) e Crioulo (CR).....	56
Figura 8. Agrupamento usando a escala multidimensional não métrica (NMDS) com base em diferenças de <i>Jaccard</i> , ANOSIM para presença ausência de espécies de FMA associadas ao solo de plantas de milho.	57



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Áreas de amostragem de milho no Oeste de Santa Catarina.....	40
<b>Tabela 2.</b> Valores médios de percentagem variáveis micorrízicas em plantas de milho do Oeste Catarinense.....	48
<b>Tabela 3.</b> Valores médios de atributos físico-químicos do solo cultivado com de três tipos de milho.....	49
<b>Tabela 4.</b> Correlações das variáveis micorrízicas com as variáveis físico-químicas do solo.....	52
<b>Tabela 5.</b> Frequência da ocorrência e frequência relativa das espécies de fungos micorrízicos arbusculares em solo de campo e culturas armadilhas de lavouras de milho Transgênico (TR), Híbrido convencional (CO), e Crioulo (CR) do Oeste de Santa Catarina.....	54





## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 O milho nos agroecossistemas do estado de Santa Catarina.....	21
2.2 Micorrizas arbusculares.....	25
2.3 Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares.....	28
2.4 Micorrizas arbusculares em milho.....	32
2.5 Micorrizas arbusculares e atributos físico-químicos do solo.....	34
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	37
3.1 Hipóteses.....	37
3.2 Objetivo geral.....	37
3.3 Objetivos específicos.....	37
4. METODOLOGIA.....	39
4.1 Área de estudo.....	39
4.2 Determinação da colonização micorrízica.....	42
4.3 Identificação morfológica de FMA.....	42
4.4 Culturas Armadilhas.....	43
4.5 Medidas de riqueza específica em espécies de FMA.....	44
4.6 Avaliação de teores de fósforo nas folhas de plantas de milho.....	44
4.7 Avaliação de atributos físico-químicos do solo.....	45
4.8 Análises estatísticas.....	45
5. RESULTADOS.....	47
5.1 Análise de variáveis micorrízicas (colonização, arbúsculos, vesículas e número de esporos no solo) em milho transgênico, híbrido convencional e crioulo no Oeste Catarinense.....	47
5.2 Relações entre variáveis físico-químicas do solo e variáveis micorrízicas em milho transgênico, híbrido convencional e crioulo no Oeste Catarinense.....	49
5.3 Riqueza específica de Fungos Micorrízicos Arbusculares em solo associado a milho transgênico, híbrido convencional e crioulo.....	53
6. DISCUSSÃO.....	59
7. CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS.....	67
APÊNDICES.....	89



## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

As relações simbióticas estabelecidas entre os FMA e as plantas não são de caráter específico, e a diversidade de fungos micorrízicos pode variar mesmo entre cultivares de uma mesma espécie, independentemente de que as variedades avaliadas sejam recentes ou antigas (STEINKELLNER, 2011). Fungos simbióticos podem influenciar o crescimento e reprodução de plantas, e afetam as comunidades de plantas em trabalhos experimentais, mas a evidência em campo é limitada. Por exemplo, Oliveira et al. (2009) encontraram diferenças na comunidade de FMA associados a variedades de milho com diferenças na eficiência da absorção de fósforo. Sasvári & Posta (2010) demonstraram diferenças na composição filogenética dos FMA que colonizaram as raízes de plantas de milho em diferentes densidades de cultivo, sugerindo a possibilidade de que condições metabólicas ou de manejo contrastantes possam influenciar a diversidade de FMA associados às raízes de uma espécie vegetal. A composição de espécies de FMA pode ser explicada pelas alterações na comunidade de plantas, por causa da natureza obrigatória da simbiose (HENDRIX et al., 1995). Também tem sido sugerido que os FMA desempenham um papel fundamental na distribuição e abundância de espécies de plantas (ROSENDAHL 2008; VAN DER HEIJDEN et al., 2008). No entanto, o conhecimento sobre os padrões globais de distribuição e abundância das espécies em geral continua sendo escassa, apesar de um gradual acúmulo de novas informações (ÖPIK et al., 2006, 2010; TRESEDER & CROSS 2006; CHAUDHARY et al., 2008; KIVLIN et al., 2011; MOORA et al., 2011; TURRINI & GIOVANNETTI 2012; YANG et al., 2012).

Este trabalho, que faz parte do projeto “Fortalecimento das condições de produção e oferta de sementes de milho para a produção orgânica e agroecológica do Sul do Brasil” desenvolvido pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), o qual tem como um de seus objetivos específicos, contribuir para a avaliação dos impactos da presença de transgenes na fauna e na microbiota associadas aos agroecossistemas, como indicadores da resiliência do sistema produtivo agrícola, investiga as diferenças nas variáveis de número de esporos do solo e de associação micorrízica entre milho transgênico, milho crioulo e milho híbrido convencional, além de como são as comunidades considerando a frequência e riqueza específica de espécies de FMA no solo entre estes tipos de milho.

Também se avaliam as relações da associação micorrízica e do número de esporos de FMA com variáveis físico-químicas do solo, e se há influência da absorção de fósforo.

Os dados que aporta este trabalho são base para o conhecimento da dinâmica das comunidades de FMA e sua associação com diferentes tipos de milho no Oeste de Santa Catarina, considerando que diferentes tipos de milho (transgênico, híbrido convencional e crioulo) têm diferenças na eficiência de absorção do fósforo e ter diferentes manejos da cultura, o qual influencia as comunidades de organismos do solo, e suas interações simbióticas. Estudos ecológicos podem mostrar características importantes para o manejo sustentável e agroecológico do cultivo, além de evidenciar processos ecológicos envolvidos na ciclagem de nutrientes em campo. Essas informações são relevantes e necessárias pela importância atual do manejo conservacionista do solo.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O milho nos agroecossistemas do Estado de Santa Catarina

O milho é uma espécie de fecundação cruzada, de alta especialização e adaptação. É uma gramínea anual, pertencente à família Poaceae, tribo Maydeae, gênero *Zea*, espécie *Zea mays* L. (PATERNIANI & CAMPOS, 1999; MACHADO & PATERNIANI, 1998). O cultivo do milho é feito em situações diversas, desde a agricultura tipicamente de subsistência, sem utilização de insumos químicos e tecnologias modernas, até lavouras que utilizam alto nível de insumos químicos e tecnologias modernas (MIRANDA et al., 2012). Seu plantio normalmente é dividido em duas épocas: a safra, realizada durante o período chuvoso e mais quente, e a safrinha, referente ao milho semeado quase sempre depois da soja precoce (MIRANDA et al., 2012). Seu cultivo pode ser realizado desde o nível do mar até mais de 3000 metros de altitude, apresentando-se como uma planta de excelentes capacidades adaptativas (CASTRO, 1999).

Com estimativa de área plantada, para a safra 2014/2015, de pouco mais de 14 milhões de hectares no Brasil, a cultura do milho representa importante papel econômico e social no agronegócio brasileiro, com uma produção total de 78 milhões de toneladas. Isso representa 39 % da produção total de grãos do país, e a cadeia produtiva emprega milhares de pessoas. O aporte do estado de Santa Catarina em área e produção é de 412 mil hectares e 3,1 milhões de toneladas de grão (CONAB, 2015). O milho é um produto de grande importância no contexto da agropecuária catarinense, pois está presente na maioria das pequenas propriedades familiares do estado, com a produção concentrada, principalmente, na região Oeste do Estado. Sua importância deve ser considerada nos aspectos social e econômico, porque é produzido por aproximadamente 150 mil famílias rurais, em sua grande maioria pequenos e médios produtores, e também por ser importante insumo para a suinocultura, avicultura e bovinocultura de leite, setores fundamentais para a agroindústria catarinense, geradora de empregos na área urbana. (EPAGRI, 2013).

Populações de milho de polinização aberta, também chamado de crioulo, continuam sendo manejadas por agricultores familiares. Tais populações representam um recurso genético e cultural único. A existência de populações crioulas de milho é importante para produtores de milho, melhoristas e consumidores em todo mundo (KELEMAN et al., 2009). O manejo destas populações implica na utilização de

métodos tradicionais, refinados ao longo de séculos de experiência de indígenas, das populações de caboclos, assim como dos imigrantes europeus e seus descendentes. Santa Catarina apresenta uma história de mais de dois mil anos de cultivo de milho. Introduzido por grupos Jê (DE MASI, 2006), a espécie passou a ter maior disseminação quando os Guarani ocuparam áreas maiores e regiões não habitadas pelos Jê. Além disso, os Guarani trouxeram suas sementes de milho, que vinham sendo adaptadas em sua marcha de 10.000 anos desde a Amazônia até o Sul (SCHMITZ, 1991).

As raças locais de milho crioulo (*Landraces*), mesmo sendo menos produtivas que as cultivares comerciais (convencionais), são de grande variabilidade genética, resistentes e adaptadas às condições da região. Além disso, os próprios agricultores têm condições de obter suas sementes, e elas são uma opção para cultivos com baixo nível de investimento tecnológico e de uso de insumos (NASS & PATERNIANI 2000, ARAÚJO & NASS 2002). Trata-se de um material tradicionalmente cultivado pelas comunidades rurais, muitas delas envolvidas hoje em movimentos de resgate das práticas agrícolas. Esse material tem sido trabalhado e difundido junto a produtores rurais, principalmente em pequenas propriedades vinculadas à agricultura familiar e a assentamentos rurais (AGRICULTURA FAMILIAR, 2004).

As propriedades de agricultura familiar, em geral, possuem baixo capital para investimentos, o que acaba inviabilizando o acesso desses produtores aos pacotes tecnológicos atuais, incluindo sementes de cultivares híbridas de elevado potencial produtivo (KIST et al., 2010). Quando cultivam sementes híbridas, transgênicas ou convencionais, os elevados patamares de produtividade obtidos em estações experimentais nem sempre se repetem em condições reais de cultivo com tecnologia limitada (BOEF et al., 2007).

O cultivo de variedades de polinização aberta ou variedades crioulas de elevado potencial genético pode ser uma alternativa para esses agroecossistemas, nos quais os recursos externos (fertilizantes, irrigação, mecanização e sementes) são escassos ou pouco acessados (KIST et al., 2010). O Oeste Catarinense é uma região do país que reúne uma rica diversidade de variedades crioulas de várias espécies vegetais, que é conservada por agricultores familiares, destacando-se o milho (COSTA et al., 2016).

No Extremo Oeste de Santa Catarina, o milho crioulo é comumente usado dentro da própria propriedade, como fonte de alimento de animais, na forma de silagem, forragem e de grãos, como fonte de alimento e medicamento para as famílias de agricultores e

como matéria-prima essencial para o preparo de uma ampla gama de produtos (COSTA et al., 2016; KUHNEN et al., 2012). Os grãos são comumente transformados em farinha e canjica pelos moinhos gerenciados pelas associações locais de agricultores, ou ainda são consumidos na propriedade como pipoca e milho verde. A palha, o grão e a espiga são usados no artesanato, enquanto os estiletes, estigmas e a pasta dos grãos são usados no preparo de medicamentos pelas agricultoras, geralmente com apoio de movimentos sociais ou de grupos religiosos (COSTA et al., 2016; KIST et al., 2010).

Na safra 2008/2009 iniciou-se o cultivo de híbridos de milho geneticamente modificado no Brasil. O desenvolvimento das plantas transgênicas tem como objetivo principal a obtenção de cultivares com determinada característica agrônômica, através de engenharia genética, ao invés do melhoramento clássico de plantas. As principais características inseridas nas plantas transgênicas referem-se à resistência a insetos herbívoros, resistência a doenças, tolerância a estresse abiótico, resistência a aplicação de herbicidas, melhoria de características nutricionais, entre outros (ISAAA, 2014).

O primeiro evento transgênico lançado no mercado brasileiro foi o MON810, expressando a toxina inseticida CRY1Ab, originária da bactéria *Bacillus thuringiensis*, por isso chamada de milho Bt. Naquela safra a área total de milho Bt no Brasil foi de 1,3 milhões de hectares, o que correspondeu a um total de 10% da área total cultivada com essa espécie no país. Já em 2012, a área com plantas Bt foi de 9,91 milhões de hectares, um total de 65% de toda área cultivada com milho no país (JAMES, 2008; 2012).

Atualmente, o Brasil possui 39 eventos transgênicos aprovados pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) órgão avaliador dos organismos geneticamente modificados (OGM) e seus derivados. As plantas transgênicas compreendem a soja, com cinco eventos, o algodão, com 12 eventos, e o milho com 21 eventos transgênicos liberados. O número de eventos é elevado, pois existem muitas variações das proteínas cry (confere resistência a insetos) e também porque a combinação de dois ou mais eventos já existentes, inseridos na mesma planta, é classificado como um novo evento (CTNBio, 2014).

O cultivo de milho transgênico deve seguir as normas de coexistência previstas na Resolução Normativa No. 04 da Comissão Técnica de Biossegurança, que dispõe sobre as distâncias mínimas entre cultivos comerciais de milho geneticamente modificado e não geneticamente modificado, visando à coexistência entre os sistemas de

produção. Segundo a regulamentação vigente, a distância entre uma lavoura comercial de milho geneticamente modificado e outra de milho não geneticamente modificado, localizada em área vizinha, deve ser igual ou superior a 100 (cem) metros ou, alternativamente, 20 (vinte) metros, desde que acrescida de bordadura com, no mínimo, 10 (dez) fileiras de plantas de milho convencional de porte e ciclo vegetativo similar ao milho geneticamente modificado. O objetivo das normas de coexistência deve ser a preservação da agricultura e da alimentação livre de transgênicos, reconhecendo o direito dos agricultores de cultivar tais produtos e dos consumidores de escolher alimentos sem OGM (FERMENT et al., 2009).

A Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, estipula em seu Artigo 1º que os produtos orgânicos devem garantir a eliminação do uso de OGM em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização. Mais além, em se tratando de sistemas de produção orgânicos e agroecológicos, a presença desse tipo de material transgênico no agroecossistema também poderia interferir na capacidade de resiliência do sistema agrícola ao alterar a diversidade e equilíbrio da biota do solo.

A resiliência dos agroecossistemas está relacionada à plasticidade de processos biológicos, assim como à dinâmica das redes biológicas que dependem da conexão de elementos e de interações estabelecidas durante a evolução. As regras que existem nestas conexões, enquanto permitem uma transferência rápida de sinais e reações eficientes a mudanças internas e ambientais, tornam os sistemas vivos resistentes a estímulos aleatórios, mas sensíveis a mudanças em componentes-chave conectados a setores de significativa importância da rede biológica (LOREAU et al., 2001).

Estudos ecológicos recentes estabelecem que tem importância não apenas os componentes-chave, mas uma comunidade complexa, formada por um número de espécies inerentemente instável, com vários tipos de interações, antagonicas ou mutualistas que variam em proporções. Os papéis desses tipos de interações múltiplas e sua composição contribuem para a manutenção das comunidades complexas. A perda parcial de um ou vários tipos de interações podem desestabilizar criticamente o complexo ecossistema, pelo relacionamento positivo complexidade-estabilidade. Assim, uma comunidade com múltiplas interações tem mais resiliência que outra que só tem um tipo de interação, e isso tem efeitos na complexidade dos ecossistemas (MOUGI & KONDOH, 2012).



Algumas evidências de efeitos prejudiciais das transferências de genes têm sido registradas, tais como mortalidade e fecundidade reduzida observados em invertebrados expostos a várias cepas produtoras de Bt (MULLA et al., 1982; FLEXNER et al., 1986), alterações nas comunidades de bactérias e fungos do solo (BLACKWOOD & BUYER, 2004) e na população de nematóides sob cultivo de milho Bt (GRIFFITHS et al., 2005). Também, Donegan et al. (1995) observaram efeitos de transgênicos de algodão Bt em abundância e diversidade de bactérias e fungos nativos. Campos et al. (2015) observaram que o milho geneticamente modificado e as técnicas de manejo agrícolas associadas a este, como a utilização de herbicidas, diminuem a diversidade de besouros no solo, com consequências no ciclagem de nutrientes.

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA), ao dependerem de uma planta hospedeira para obtenção de compostos de carbono e reprodução, podem ser sensíveis às mudanças na fisiologia da planta, mudanças bioquímicas associadas com a modificação de Bt ou alterações em exsudatos radiculares lançadas na rizosfera (SAXENA & STOTZKY, 2000; SAXENA et al., 2002; ICOZ & STOTZKY, 2008 A, B; EPA, 2011), com efeito direto nos FMA. Estudos feitos até hoje sugerem que algumas linhagens de milho Bt são pouco colonizadas por FMA (TURRINI et al., 2004; CASTALDINI et al., 2005; CHEEKE et al., 2011).

## **2.2 Micorrizas arbusculares**

Micorrizas são associações entre raízes de plantas e micélio de determinados fungos do solo que estabelecem uma dependência fisiológica recíproca. Esta simbiose é a colonização fúngica mais difundida no Reino Vegetal, sendo encontrada em mais de 90% das famílias vegetais, tendo uma contribuição substancial para a biomassa do solo (GIOVANNETTI, 2010; GUERRERO et al., 1996).

Os tipos de micorrizas, definidos segundo a taxonomia fúngica, características morfológicas, forma de colonização de tecidos radiculares e família do simbionte vegetal, são: micorrizas arbusculares, arbutóides, monotrópóides, ericóides, orquidóides, ectomicorrizas e ectendomicorrizas (SMITH & READ, 2008). Fungos micorrízicos arbusculares, pertencentes ao filo Glomeromycota (SCHÜBLER et al., 2001), estão entre os microrganismos mais comuns dos solos do mundo, associando-se com mais de 80% das espécies de plantas vasculares (ALLEN, 1996). Eles são simbiossantes obrigatórios de plantas, pois obtêm todo seu carbono de uma planta hospedeira, enquanto beneficiam a

planta, por efeito tais como melhoria da aquisição de nutrientes e aumento da resistência a patógenos e a estresses abióticos (SMITH & READ, 2008). Uma definição para micorrizas arbusculares, que envolve conceitos de natureza física, aspectos nutricionais, funcionais e ecológicos, é aquela feita por Schüßler & Walker, (2010): "simbiose endofítica, biotrófica e mutualística, prevalente em plantas nativas e cultivadas, caracterizada pelo contato íntimo e integração morfológica entre o fungo e a planta, para a regulação funcional e troca de metabólitos com benefícios mútuos". O nome arbuscular deriva de arbúsculos, estruturas características do fungo que ocorrem dentro das células do córtex nas raízes de plantas. Algumas vezes esses fungos formam, dentro das raízes, vesículas, estruturas ricas em lipídios que tem a função de estocar reservas energéticas.

Na simbiose micorrízica arbuscular, a planta supre o fungo com energia para crescimento e reprodução via fotossíntese, e o fungo provê à planta e ao solo uma gama de serviços. Uma função da micorriza arbuscular é realizada pelo micélio do fungo o qual modifica a morfologia da raiz e desenvolve uma rede de hifas que incrementa a absorção mineral de nutrientes e água pelas plantas, permitindo serviços como agregação das partículas de solo e promoção do crescimento da planta, além de redução dos requerimentos de fertilizantes (BOLAN, 1991; SMITH & READ, 1997; MIYASAKA & HABTE, 2001, SMITH & READ, 2008, GIANINAZZI, et al., 2010).

Outros efeitos relevantes dos FMA são aumentos na resistência da planta ao ataque de patógenos do sistema radicular (JEFFRIES et al., 2003; BERBARA, DE SOUZA, & FONSECA, 2006; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Os FMA contribuem também para a acumulação de estoques de carbono (RILLIG et al., 2001) e biomassa microbiana em solos (OLSSON & WILHELMSSON, 2000), favorecendo assim o sequestro de carbono da atmosfera. A estabilidade de agregados do solo, também é incrementada através da ação de uma glicoproteína denominada glomalina que é produzida por os FMA (WRIGHT & UPADHYAYA, 1996, 1998; RILLIG & MUMMEY, 2006.). Outra função dos FMA é seu efeito de "Buffering" ante os estress abióticos, incrementando a resistência da planta frente a contaminação por minerais pesados e esgotamento de nutrientes (GIANINAZZI, et al., 2010). No entanto, para utilizar essa simbiose para a manutenção da diversidade nos ecossistemas naturais, é necessário estimar sua diversidade e conhecer a ecologia dos FMA (SOUZA et al., 2008).

As micorrizas arbusculares envolvem aproximadamente 250 espécies de fungos definidas morfollogicamente (REDECKER et al,

2013), e de 350 a cerca de 1000 OTUs , encontradas por técnicas moleculares(DAVIDSON, et al, 2015). Existem poucas espécies de fungos identificadas para um número muito superior de plantas que podem formar micorrizas arbusculares (ALLEN et al., 1995; REDECKER et al., 2013), o que possibilita a associação de uma planta com mais de uma espécie de FMA, existindo baixa especificidade de plantas quanto a espécies de FMA. Estudos feitos por Davison et al. (2015) mostraram que as comunidades de FMA refletiam as condições ambientais locais e a distância espacial entre os locais; no entanto, apesar de estes, aparentemente, terem uma capacidade de dispersão limitada, os autores encontraram 93% das unidades taxonômicas operacionais (OTUs) conhecidas em vários continentes e 34% delas em todos os seis continentes do mundo, o que contrasta com a alta rotatividade espacial de outros táxons de fungos e com o endemismo apresentado pelas plantas em escala global.

A capacidade de um tipo de FMA poder colonizar diversas espécies vegetais permite a formação de uma rede de hifas que interconecta sistemas radiculares, através da qual se translocam nutrientes entre plantas. Essas redes de hifas tem uma importância estratégica para o FMA, servindo para a expansão do fungo no solo e para a absorção de carbono de uma forma mais eficiente, por meio da colonização ativa de raízes, garantindo seu contínuo crescimento e atividade (HODGE, 2000).

A eficiência simbiótica, ou a capacidade relativa dos isolados de FMA aumentarem o crescimento e a reprodução vegetal em um solo deficiente em fósforo (ABBOTT & ROBSON, 1981), pode apresentar diferenças entre isolados de FMA, por causa de uma série de variáveis, tais como a taxa de colonização radicular (ABBOTT & ROBSON, 1981), a abundância das hifas externas no solo e a distribuição do micélio (GRAHAM et al., 1982), a atividade e a longevidade das hifas (SYLVIA, 1988), além de propriedades do solo tais como temperatura (SCHENCK & SMITH, 1982), pH (SKIPPER & SMITH, 1979) e níveis de fósforo (SCHUBERT & HAYMAN, 1986).

Segundo Abbott & Robson (1991), o conhecimento da densidade de propágulos infectivos, capacidade infectiva e efetividade dos FMA indígenas é fundamental para o desenvolvimento de estudos sobre ecologia e manejo dos FMA, visto que eles sobrevivem em raízes de plantas ou como esporos no solo. A correlação entre os números de esporos no solo e infecção em hospedeiros de planta pode ser baixa em algumas situações, talvez por causa de esporos inviáveis (HAYMAN, 1970; DAFT & NICOLSON, 1972; READ et al., 1976; REDHEAD,

1977; FURLAN & FORTIN, 1977). Em condições naturais, os fragmentos de raízes colonizadas e o micélio presente no solo são, em geral, mais infectivos que os esporos, como revisado por Brundrett (1991) e Smith & Read (2008).

Assim, as relações simbióticas estabelecidas entre os FMA e as plantas não são de caráter específico, e a diversidade de fungos micorrízicos pode variar mesmo entre cultivares de uma mesma espécie, independentemente de que as variedades avaliadas sejam recentes ou antigas (STEINKELLNER, 2011). Por exemplo, Oliveira et al., (2009) demonstraram diferenças na comunidade de FMA associados a variedades de milho com diferenças na eficiência da absorção de fósforo. Sasvári & Posta (2010) demonstraram diferenças na composição filogenética dos FMA que colonizaram as raízes de plantas de milho em diferentes densidades de cultivo, sugerindo a possibilidade de que condições metabólicas ou de manejo contrastantes possam influenciar a diversidade de FMA associados às raízes de uma espécie vegetal. Hendrix et al. (1995) afirmam que a composição de espécies de FMA pode ser explicada pelas alterações na comunidade de plantas, por causa da natureza obrigatória dos simbiontes.

Também tem sido sugerido que os FMA desempenham um papel fundamental na distribuição e abundância de espécies de plantas (ROSENDAHL 2008; VAN DER HEIJDEN et al., 2008). No entanto, o conhecimento sobre os padrões globais de distribuição e abundância das espécies de FMA em geral continua sendo escassa, apesar de um gradual acúmulo de novas informações (ÖPIK et al., 2006, 2010; TRESEDER & CROSS 2006; CHAUDHARY et al., 2008; KIVLIN et al., 2011; MOORA et al., 2011; TURRINI & GIOVANNETTI 2012; YANG et al., 2012).

### **2.3 Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares**

A biodiversidade é um termo amplamente utilizado na descrição da variabilidade entre organismos ou populações de organismos, pode ser avaliada pela diversidade ecológica (número de ecossistemas presentes em um determinado ambiente), diversidade genética (variabilidade dentro de uma espécie) e diversidade de espécies (número de diferentes espécies presentes em um dado ambiente). Medem-se assim os diferentes níveis de complexidade biológica (GIOVANNETTI & GIANINAZZI-PEARSON, 1994).

A diversidade dentro de um habitat não deve ser confundida com a diversidade de uma região que contém vários habitats. Portanto, de acordo com a escala utilizada, pode-se distinguir três tipos de

diversidade: alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) e gama ( $\gamma$ ). A diversidade  $\alpha$ , ou local, corresponde à diversidade dentro de um habitat ou comunidade, e é bastante sensível à definição de habitat, e à área e intensidade da amostragem. A diversidade  $\gamma$ , ou regional, corresponde à diversidade de uma grande área, bioma, continente, ilha, etc. A diversidade  $\beta$  corresponde à diversidade entre habitats ou outra variação ambiental qualquer, isto é, mede o quanto a composição de espécies varia de um lugar para outro (BEGON et al., 2005).

De acordo com Begon et al. (1996), a diversidade é um índice composto das variáveis grupo de espécies, a riqueza de espécies, e a uniformidade de repartição dos indivíduos entre os grupos, a equidade. De acordo com Kennedy (1999), a diversidade pode ser medida por meio de índices matemáticos. A riqueza de espécies é representada pelo número de espécies por área. O índice de Margalef ( $R = -1/\log.n$ ) e o índice de Menhinick ( $R = S/n$ ) são os mais usados para medir riqueza de espécies, sendo:  $R$  = riqueza de espécies,  $S$  = número total de espécies,  $n$  = número de indivíduos. As equações de Margalef e Menhinick são baseadas na suposição de que qualquer medida de riqueza depende do tamanho da amostra. Estes índices fornecem informações importantes acerca do padrão de distribuição de espécies microbianas dentro do ecossistema. A riqueza tem sido relacionada a fatores tais como clima, latitude, produtividade do ecossistema, uso e manejo do solo (KENNEDY & SMITH, 1995).

Dentre os índices de diversidade mais usados, o índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ) está entre os mais indicados. Ele expressa equidade, que é abundância relativa de espécies, assim como o grau de dominância de uma espécie em relação a outras (KENNEDY & SMITH, 1995). Estes índices na prática resultam pouco úteis para o estudo dos FMA via morfologia devido a que o número de indivíduos está baseado no número de esporos o qual é um parâmetro bastante variável, pois a esporulação das espécies em frequência e abundância pode diferir, segundo o genótipo dos fungos, o ritmo de crescimento das plantas e o estágio fenológico em que estas se encontraram, além de estresses ambientais, incluindo os tratamentos culturais. (CARRENHO, et al., 2010).

Outros índices descrevem o quanto as comunidades são distintas, ou similares, em termos de composição de espécies, estes utilizam medidas de diversidade  $\beta$ . A diversidade  $\beta$ , ou diversidade diferencial, é uma medida de como a variedade, e em alguns casos a abundância de espécies, difere entre comunidades ou amostras ao longo de gradientes. Quanto menos espécies as diferentes comunidades compartilham, mais alta é a diversidade  $\beta$  (BEGON et al., 2005).

A maneira mais simples de medir a diversidade  $\beta$  entre pares de locais é pelo uso dos coeficientes de similaridade. Estes coeficientes comparam comunidades de forma qualitativa ou quantitativa. Os índices qualitativos, ou coeficientes binários, mais utilizados são o índice de Jaccard ( $S_j$ ) e o índice de Sorensen ( $S_s$ ), expresso como:

$$S_j = a/(a + b + c); S_s = 2a/(2a + b + c)$$

Onde  $a$  é o número de espécies encontradas em ambos os locais A e B,  $b$  é o número de espécies no local B, mas não em A, e  $c$  é o número de espécies no local A, mas não em B. A desvantagem destes índices é que eles não levam em conta as abundâncias das espécies, mais no caso dos FMA podem ser aplicados dado a variabilidade do dado de abundancia baseado na ocorrência de esporos.

No caso dos FMA os estudos de diversidade comumente incluem também cálculo de frequência de espécies ocorrentes. A frequência fornece uma medida de espécies raras ou comuns dentro de um ecossistema e isso pode estar relacionado diretamente com a esporulação de fungos (STÜRMER & BELLEI, 1994).

Comunidades de FMA têm sido analisadas, basicamente, por três métodos: (1) extração direta de esporos, (2) cultivo-armadilha, ambos seguidos de identificação morfológica de esporos (DOUDS & MILLNER, 1999; BEVER, PRINGLE, & SCHULTZ, 2002; OEHL et al., 2005) e (3) métodos moleculares baseados na extração, amplificação e caracterização de ácidos nucleicos (CLAPP et al., 2002).

No primeiro método, a presença e a identificação dos esporos na rizosfera ou no solo tem sido a maneira mais comum e mais simples para estimar a abundância e a riqueza específica de FMA nas comunidades vegetais (STÜRMER & SIQUEIRA, 2008). A identificação baseada nos esporos é necessária porque os esporos representam o único estágio de desenvolvimento dos fungos que têm os caracteres morfológicos utilizados para definir espécies nesse grupo de organismos (MORTON et al., 1995). A maioria das pesquisas de FMA no campo, baseadas em coletas de esporos de amostras de campo, encontra um número tão baixo, ou esporos tão parasitados, que uma identificação exata é difícil. Estes dados, na melhor das hipóteses, são informativos para a avaliação de padrões de distribuição e dispersão de espécies, mais não fornecem uma medida exata da estrutura da comunidade de fungos local, porque espécies que não estão esporulando podem estar presentes e elas não são detectadas nas amostras (STÜRMER, 1998).

No segundo método, culturas armadilha de amostras de solo de campo podem induzir a esporulação de espécies crípticas não encontradas nas amostras de campo (BEVER et al., 1996; STUTZ & MORTON, 1996). As culturas armadilha podem atuar como um filtro, permitindo a esporulação de apenas uma parte das espécies de FMA indígenas agressivas o suficiente para colonizar e esporular quando associadas a um hospedeiro de crescimento rápido, sob condições artificiais e em curto espaço de tempo. Por isso, essa abordagem deve ser incorporada na análise da diversidade de espécies de FMA (LEAL et al., 2009), além disso, a técnica também pode ser utilizada para superar alguns dos problemas da extração direta de esporos, como, por exemplo, a baixa qualidade dos esporos obtidos para fins taxonômicos (SOUZA et al., 2008).

No terceiro método, a adoção da biologia molecular provê uma ferramenta de estudo da interação entre os FMA e seus hospedeiros, principalmente, com ênfase na comunidade fúngica das raízes, tanto em relação à riqueza quanto à abundância relativa das espécies.

Estudos de Clapp et al. (2002) com esses métodos identificaram espécies com cinco comportamentos distintos, o que demonstra que nenhum desses métodos é capaz de revelar toda a diversidade de FMA presente na área, pelas razões a seguir: (1) Espécies abundantes em raízes, com esporos raros ou ausentes; (2) Espécies raras em raízes e esporos ausentes, mas facilmente obtidas em cultivo-armadilha; (3) Espécies abundantes em raízes e esporos encontrados no solo e em cultivo-armadilha, mas não cultiváveis isoladamente; (4) Espécies obtidas em cultivo-armadilha, mas não encontradas em raízes ou como esporos no solo; (5) Espécies encontradas como esporos no solo, mas ausentes em raízes e em cultivo armadilha (CLAPP et al., 2002). Esse exemplo deixa claro que tais métodos devem ser utilizados em conjunto, de forma a se obter uma visão mais completa da biologia, ecologia, diversidade, estrutura de comunidades desses fungos e da interação deles com plantas.

O tipo de cultivo, o manejo e o impacto do uso do solo diminuem, na maioria das vezes, a riqueza de espécies de FMA. O uso do solo pode levar a alterações do ecossistema, reduzindo o desenvolvimento dos FMA em até 80%, e isto terá consequências para o funcionamento dos agrossistemas (SMITH & READ, 2008). Oehl et al. (2003), avaliando o impacto da intensidade do uso do solo sobre a diversidade de FMA em agroecossistemas na Europa Central, verificaram que os números de espécie e de esporos de FMA foram maiores em pastagens e menor em solos com monocultivo de milho. Estes mesmos autores concluíram que

o aumento da intensidade de uso do solo correlacionou-se com a diminuição da riqueza de espécies de FMA e com a seleção preferencial de espécies que colonizaram as raízes lentamente, mas com formação rápida de esporos. Segundo Sieverding (1991), em ecossistemas pouco alterados, a diversidade biológica das populações nativas pode variar em torno de aproximadamente 25 espécies, enquanto em agrossistemas intensamente manejados a diversidade diminui para valores entre cinco e 15 espécies, principalmente em consequência dos monocultivos.

## **2.4 Micorrizas arbusculares em milho**

O milho é reconhecido como bom hospedeiro para FMA, em razão de seu amplo sistema radicular, alta capacidade fotossintética e elevada demanda de fósforo (CARRENHO et al., 2010), sendo uma cultura com grande influência na comunidade micorrízica (OLIVEIRA et al., 2009). Os genótipos de milho com maior colonização de FMA são aqueles que têm a maior proporção de fósforo acumulado por matéria seca na raiz, como observado em situações ambientais de baixa disponibilidade deste nutriente em solo do Cerrado (REIS et al., 2008).

Esse resultado demonstra a importância de se identificar a eficiência na associação simbiótica de FMA em cultivares distintas de milho. Em outro estudo, a inoculação com um FMA aumentou a massa e o conteúdo de nitrogênio e de fósforo nas plantas, sendo que a transferência de nitrogênio através da rede de micélio do fungo para o milho representou 21% do total (MARTINS & CRUZ, 1998). Também foi observado que o grau de dependência da simbiose micorrízica em solos com baixo nível de fósforo varia amplamente entre variedades de milho (KHALIL et al., 1994).

A variação em exsudação radicular entre genótipos e espécies de milho sugere o potencial de manipulação dessa exsudação em cultivares agrícolas, a fim de criar efeitos seletivos específicos na microbiota da rizosfera. Assim, a disponibilidade de colonizadores benéficos na rizosfera pode depender dos efeitos seletivos da safra anterior (BAKKER et al., 2012).

De forma semelhante ao que ocorre em outras espécies de plantas, estudos em monocultivos de milho demonstram uma seleção de espécies com baixa eficiência simbiótica, diminuindo a eficiência da comunidade nativa de fungos micorrízicos. Essa seleção reduz o número de espécies nativas, muitas vezes alterando a estrutura das comunidades de FMA de forma negativa (CARRENHO et al., 2010). Estima-se que monoculturas de milho contêm entre cinco e 18 espécies de FMA que



estão relacionadas com as diferentes práticas agrícolas (OEHL et al., 2004, JEFWA et al., 2006).

Em geral, um melhor desempenho de uma cultura vegetal relaciona-se à presença de espécies de FMA mais eficientes na comunidade (SIEVERDING, 1991). Em sistemas com maior diversidade de plantas, ocorre maior diversificação da comunidade micorrízica, o que pode resultar em melhor eficiência simbiótica. (CARRENHO et al., 2010).

Também as culturas em sucessão com o milho podem proporcionar respostas diferenciadas à eficiência simbiótica dos FMA. Diferentes plantas cultivadas podem promover distintos aumentos ou reduções na taxa de colonização radicular, diversidade e número de esporos, em razão da natureza de simbiontes obrigatórios dos FMA. Assim, a sequência de plantas utilizadas afeta as comunidades de fungos micorrízicos, pois as espécies vegetais apresentam diferentes graus de suscetibilidade à colonização (CARRENHO et al., 2010).

Nos últimos anos as técnicas moleculares têm realizado aportes no conhecimento das comunidades de FMA. Estudos feitos em campo, com base na caracterização e isolamento de esporos de solos agrícolas, mostraram índices de diversidade ligeiramente superiores àqueles feitos por ferramentas moleculares (OEHL et al., 2010), mas os resultados obtidos com essas duas diferentes abordagens não podem ser comparados facilmente. Boriello et al. (2012) argumentam que a avaliação da diversidade de FMA com base na caracterização morfológica de esporos permite registrar algumas morfoespécies por critérios provavelmente subjetivas, e que as abordagens moleculares permitem a detecção de espécies crípticas, ainda não caracterizadas como morfoespécies que estão presentes no solo como micélios e não como esporos. Os autores realizaram uma análise exploratória com abordagens moleculares da comunidade de FMA presente nas raízes de milho, no qual se destaca uma forte predominância de sequências pertencentes à família *Glomeraceae*, avaliada como a mais frequente unidade taxonômica operacional (OTU) obtida no solo. O predomínio de espécies pertencentes a *Glomeraceae* em solo e raízes confirmou as características conhecidas dos membros desta família, de adaptabilidade e tolerância a estresse, confirmando que eles podem ser obtidos através de uma grande variedade de habitats, natural ou agrícola (ÖPIK et al. 2006; BORIELLO et al. 2012).

## 2.5 Micorrizas arbusculares e atributos físico-químicos do solo

Estudos sobre FMA vêm, há anos, sendo conduzidos por muitos pesquisadores que investigam os efeitos da fertilidade do solo sobre a densidade de esporos e a distribuição dos FMA. Como exemplos, Santos & Carrenho (2011) verificaram que as propriedades químicas do solo influenciam as comunidades dos FMA, e o teor de fósforo foi negativamente relacionado com número de esporos, fato também observado por Silva (2009). Os FMA podem incrementar a área de absorção das raízes entre 60 vezes (BIELESKI, 1973), por causa do micélio, que pode explorar mais área de solo.

Moreira & Siqueira (2006), encontraram que, assim como o fósforo, o potássio, macronutriente participante do processo fotossintético, favorece a proliferação de maior número de espécies de FMA, ocasionando aumento na equidade das comunidades investigadas de FMA. Já ferro e cobre mostraram-se positivamente relacionados com a diversidade de espécies; esses micronutrientes atuam diretamente sobre os propágulos infectivos, interferindo na micorrização, pois, dependendo da concentração no solo, podem atuar como fungistáticos (HEPPER, 1979).

Os solos com pH baixos apresentam altos teores de óxidos de alumínio e ferro. Rossiello & Jacobb-Neto (2006) afirmam que o alumínio em excesso, juntamente com o hidrogênio, e em algumas situações o Mn, são características relacionadas com limitações nutricionais comumente observadas em solos brasileiros. Altos teores de alumínio também resultam em alta capacidade de fixação de fósforo, condições que limitam a produção das culturas e o estabelecimento da simbioses micorrízica (HAYMAN et al. 1985, SIEVERDING 1991, SIQUEIRA et al., 1986, CARRENHO et al., 2001; CARDOSO et al., 2010). A principal estratégia para lidar com estas condições é a adição de corretivos e fertilizantes, mas os custos são geralmente altos, além disso, os fertilizantes de alta solubilidade possuem baixa eficiência, pela mesma fixação no solo, recuperando-se aproximadamente entre 10% e 20% do aplicado (JANSSEN & WILLIGEN, 2006; CARDOSO et al., 2010).

A matéria orgânica do solo, formada por exsudatos radiculares, fragmentos de raiz e outros tipos de resíduos orgânicos, é transformada por vários organismos do solo, tais como as bactérias, fungos e minhocas. São liberados compostos biologicamente ativos durante o processo de transformação, como vitaminas e reguladores de crescimento de plantas que são particularmente importantes, como por exemplo, a adição de quitina no solo, que geralmente promove o

crescimento de hifas e esporulação de FMA (GRYNDLER et al., 2003). A adição de quitina, no entanto, estimula a comunidade de actinobactérias no solo (PETERSON et al. 1965; GRYNDLER et al., 2003), e sua atividade poderia afetar o desenvolvimento dos FMA (AMES, 1989; CARPENTER-BOGGS et al., 1995).

A densidade aparente do solo é influenciada pelo tipo de agregados do solo (JARAMILLO, 2011) e as hifas contribuem na formação de agregados, o que em geral leva a uma diminuição da densidade do solo. Valores altos de densidade aparente indicam compactação de solo e menor desenvolvimento de raízes e micorrizas (GUPTA & GERMIDA, 1988). Azcon, et al. (1996); Cuenca, et al. (1996) e Guerrero, et al. (1996) observaram que a produção de esporos está relacionada com a produção de micélio extraradicular, que por sua vez é influenciada pelo grau de compactação do solo.

As práticas de manejo das culturas tem efeito nas populações de FMA, e se tem observado altas populações nos agrossistemas que englobam, principalmente, uso reduzido de agroquímicos, cultivo mínimo e rotação de culturas (JASPER et al., 1989). Essa população natural é também diversificada, podendo ser encontrada em torno de cinco a seis espécies convivendo na mesma rizosfera, enquanto podem ser reduzida ou inexistente em solos sob pousio ou inundados, ou ainda em solos alterados pela agricultura intensiva ou pela mineração (BRUNDRETT, 1991). Várias práticas de manejo do solo, como, por exemplo, aração e rotação de culturas, impactam a comunidade micorrízica, por romper a rede de micélio externo e diminuir a diversidade de espécies, ou por selecionar espécies menos mutualísticas (MCGONIGLE et al., 1990a; JOHNSON, 1993).



### **3. HIPÓTESES E OBJETIVOS**

#### **3.1 Hipóteses**

- a. Atributos físico-químicos do solo se relacionam positiva ou negativamente com a percentagem de colonização micorrízica das raízes e com o número de esporos no solo dos FMA em áreas com milho transgênico, milho crioulo e milho híbrido convencional.
- b. A associação micorrízica é influenciada pela disponibilidade de fósforo em áreas com milho transgênico, milho crioulo e milho híbrido convencional.
- c. O número de esporos do solo e a percentagem de colonização micorrízica das raízes diferem entre milho transgênico, milho crioulo e milho híbrido convencional.
- d. A ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares é similar entre milho transgênico, milho crioulo e milho híbrido convencional.

#### **3.2 Objetivo geral:**

Caracterizar a associação e ocorrência dos fungos micorrízicos arbusculares e a influência de atributos físico-químicos do solo em três tipos de milho (transgênico, híbrido convencional e crioulo) em lavouras do Oeste de Santa Catarina

#### **3.3 Objetivos específicos:**

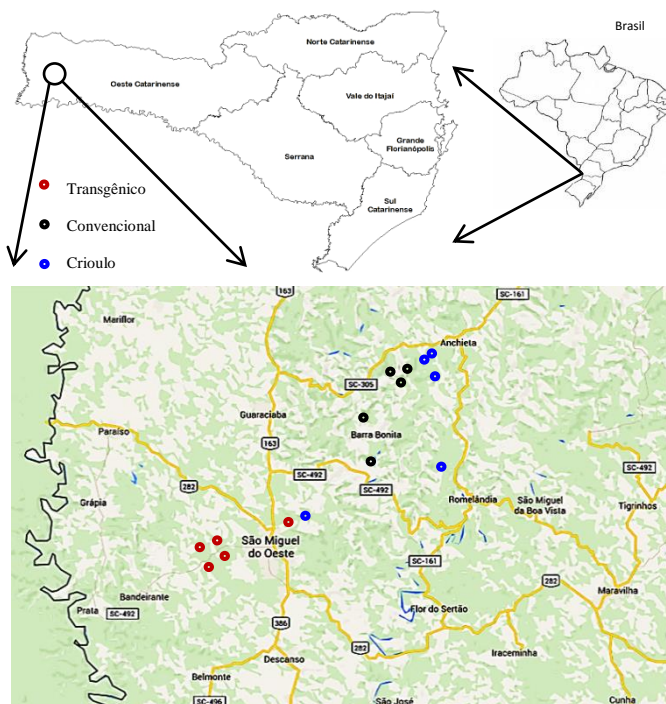
1. Relacionar atributos físico-químicos do solo de diferentes agrossistemas cultivados com milho com as variáveis de associação micorrízica e número de esporos dos FMA.
2. Determinar se a associação de FMA em agrossistemas com milho crioulo, transgênico e convencional no Oeste de Santa Catarina é afetada pela disponibilidade de fósforo no solo.
3. Avaliar e comparar variáveis de associação micorrízica e número de esporos no solo em plantas de milho crioulo, transgênico e convencional.
4. Caracterizar e comparar a ocorrência, em termos de frequência e composição de espécies, de FMA associados a áreas com milho crioulo, transgênico e convencional no Oeste de Santa Catarina.



## 4. METODOLOGIA:

### 4.1 Área de estudo

O estudo foi conduzido na região Oeste do Estado de Santa Catarina, nos municípios de, Anchieta, Bandeirante, Barra Bonita, Romelândia e São Miguel do Oeste (Figura 1) com clima Cfb, segundo Köppen, ou seja, clima temperado constantemente úmido, sem estação seca, com verão fresco (temperatura média do mês mais quente  $< 22,0^{\circ}\text{C}$ ). Segundo Braga et al. (2009), o clima é mesotérmico brando (temperatura do mês mais frio entre  $10$  e  $15^{\circ}\text{C}$ ), com isoterma do mês mais frio entre  $11,5^{\circ}\text{C}$  e  $13,0^{\circ}\text{C}$ . A temperatura média anual varia de  $16,3$  a  $17,9^{\circ}\text{C}$ . A precipitação pluviométrica total anual pode variar de  $1.790$  a  $2.280$  mm, com o total anual de dias de chuva entre  $118$  e  $146$  dias. A umidade relativa do ar pode variar de  $73$  a  $82\%$  (THOME et al., 1999).



**Figura 1.** Mapa das áreas que foram objeto de amostragem no Oeste de Santa Catarina.

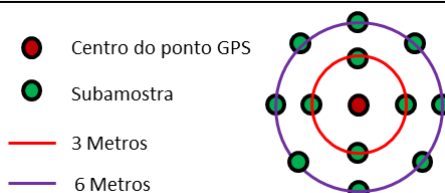
As coletas de solo e de raízes para avaliação da colonização e diversidade de FMA foram realizadas em 15 áreas amostrais de 0,5 a 1,0 hectare cada um (Tabela 1 e Apêndice A). Dentre elas, cinco foram de cultivos de milho híbrido convencional, cinco de cultivos de milho crioulo e cinco de cultivos de milho transgênico. As coletas foram intensivas e realizadas durante o período do verão (entre novembro de 2014 e janeiro de 2015), no período em que as plantas de milho se encontravam em fase reprodutiva, de 60 a 90 dias após a semeadura. Nessa etapa a planta tem o sistema de raízes desenvolvido e apresenta um alto estabelecimento da interação mutualística.

**Tabela 1.** Áreas de amostragem de milho no Oeste de Santa Catarina (TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo).

Código	Tipo de milho	Município	Coordenadas	Lavoura Anterior	Adubação	Quantidade aprox. de adubo (kg/ha)	Tipo de solo
TR1	Biomatrix 3061	Bandeirantes	S26°42'33.7" W53°35'45.7"	Soja	09-33-12 / Ureia	300/100	Franco Argilo Arenoso
TR2	Biomatrix 3061	Bandeirantes	S26°42'40.6" W53°36'21.9"	Soja	09-33-12 / Ureia	300/100	Franco Argilo Arenoso
TR3	Agroceres 5011	Bandeirantes	S26°42'33.2" W53°37'20.8"	Soja	5-25-25	200	Franco Argilo Arenoso
TR4	Biomatrix 3061	Bandeirantes	S26°42'52.5" W53°36'28.1"	Soja	09-33-12	300	Franco Argilo Arenoso
TR5	Syngenta Maximus TLTG Vip.32	São Miguel do Oeste	S26°41'29.7" W53°32'21.4"	Soja	09-33-12	300	Franco Argilo Arenoso
CO1	Catarina SCS 155	Anchieta	S26°28'45.5" W53°18'03.6"	Soja	8-20-20 / Ureia	300	Franco Argilo Arenoso
CO2	Catarina SCS 155	Anchieta	S26°29'06.6" W53°18'02"	Soja	8-20-20 / Ureia	300	Franco Argilo Arenoso
CO3	Catarina SCS 155	Anchieta	S26°29'08.1" W53°17'46.5"	Soja	8-20-20 / Ureia	300	Franco Argilo Arenoso
CO4	BR 106 Embrapa	Barra Bonita	S26°37'24.7" W53°22'15.6"	Soja	8-20-20 / Ureia	300	Franco Argilo Arenoso
CO5	Santa Elena 5070	Anchieta	S26°34'34.5" W53°22'45.9"	Milho	8-20-20 / Ureia	300	Franco Argilo Arenoso
CR1	Lingua de papagaio; palho roxa	Anchieta	S26°27'14.3" W53°19'35.6"	Feijão	Estercor de galinha, peru, porco, vaca	5000	Franco Argiloso
CR2	Lingua de papagaio; palho roxa	Anchieta	S26°27'17.7" W53°19'29.8"	Feijão	Estercor de galinha, peru, porco, vaca	5000	Argilo Arenoso
CR3	Amarelhao; Maia	Romelândia	S26°37'24.7" W53°22'15.9"	Feijão	Estercor aviar	5000	Argilo Arenoso
CR4	Pixorum 5	Anchieta	S26°31'36.8" W53°23'05.7"	Aveia	Estercor de frango comercial; + Ureia.	5000/100	Franco Argilo Arenoso
CR5	Tacuara; Cunha	São Miguel do Oeste	S26°41'29.7" W53°32'21.4"	Aveia	Adubo verde, rotação com Aveia.	—	Franco Argilo Arenoso



Em cada uma das quinze áreas amostrais foram tomadas amostras de aproximadamente 500 g de solo rizosférico de plantas de milho, em cinco pontos aleatórios georreferenciados (75 pontos), a uma profundidade de 0 a 30 cm (HART et al., 2015) e seguindo a metodologia proposta pelo TSBF (Tropical Soil Biology and Fertility) (MOREIRA et al., 2008). Resumidamente, de cada ponto de amostragem foram coletadas 12 subamostras como segue: quatro subamostras coletadas a 3 m do ponto central e outras oito subamostras coletadas a 6 m do ponto central, nas quatro direções cardeais e quatro entre eles (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema de coleta das amostras de solo por ponto de amostragem

As amostras foram transportadas para o laboratório em caixas térmicas com gelo e mantidas a 4 °C até processamento, no máximo até dois meses após a amostragem. Uma porção desta amostra de solo composta (200 g) foi submetida a análises químicas, e outra parte (100 g) foi usada para extração direta de esporos, a fim de medir a diversidade de espécies e identificar taxonomicamente os FMA por métodos morfológicos. Com o solo restante das amostras (200 g) foi feita uma mistura por área para o estabelecimento de culturas armadilha. Em cada ponto de amostragem, também foi colhida uma planta de milho (5 por área) para fazer coleta das raízes terciárias, a fim de determinar a colonização por FMA. As raízes foram colocadas em sacos plásticos, transportadas em caixas térmicas com gelo e armazenadas a 4 °C até o processamento no laboratório. Uma parte das raízes de cada planta foi misturada por área e dividida em duas amostras, uma para o estabelecimento de culturas armadilha e outra para análises de colonização micorrízica. Uma porção terciária raiz, de aproximadamente 20 cm de comprimento, tomada de cada planta de milho, foi armazenada em sacos plásticos com sílica-gel em caixa térmica com gelo, sendo posteriormente colocada em armazenamento a -80 °C para fins de extração de DNA.

Para as análises físicas de solo, em cada ponto de amostragem foram tomadas amostras indeformadas na camada de 0 a 10 cm de

profundidade com um cilindro metálico com bordas em bisel, para avaliar a densidade aparente do solo. Por último, a parte aérea das plantas de milho foi coletada em sacos de papel, para determinar a produção de a matéria seca por planta e os teores de fósforo do tecido vegetal.

#### **4.2 Determinação da colonização micorrízica**

Amostras de raízes finas, retiradas de cada ponto, foram lavadas em água corrente, clareadas em KOH 10% a 80 °C por 60 min, acidificadas em HCl 10 % e coradas com azul de tripano (KOSKE & GEMMA, 1989). A Percentagem de colonização foi feita pelo método de interseções em lâmina (McGONIGLE, et al., 1990b): as raízes finas coradas, cortadas em fragmentos de 1,0 cm, foram colocadas em glicerina em lâminas de microscópio e cobertas com lamínulas de 40 x 22 mm. Entre duas e quatro lâminas foram utilizadas para cada amostra. As raízes foram alinhadas paralelamente ao eixo maior das lâminas e observados na ampliação 200x. Foram examinadas 100 interseções contando as seguintes categorias; arbúsculos, vesículas, e hifas. Campos colonizados foram definidos pela presença de arbúsculos, vesículas ou hifas intracelular e intercelular.

#### **4.3 Identificação morfológica de FMA**

Os esporos foram extraídos por peneiramento úmido de uma subamostra de 50 cm<sup>3</sup> de cada amostra de solo (GERDEMANN & NICOLSON, 1963), com posterior centrifugação em gradiente de sacarose 20 % / 60 %. As subamostras de solo foram colocadas em um balde de 2 L, vertendo-se água de torneira e deixada em suspensão; em seguida esta foi vertida de maneira constante sobre duas peneiras superpostas, com aberturas de 710 e 53 µm. O material retido na peneira de 710 µm foi transferido para placa de Petri (150 mm) e inspecionado sob microscópio de dissecação para coletar esporos grandes e esporocarpos de FMA. O material coletado na peneira de 53 µm foi colocado em tubo Falcon de 50 mL contendo gradiente de sacarose e centrifugado a 1000 g por um minuto. O sobrenadante foi passado em peneiras de 53 µm, 90 µm e 180 µm e lavado, e os esporos foram transferidos para placas de Petri. Todos os esporos foram separados por morfotipo, de acordo com características microscópicas, como forma, tamanho, cor e acessório hifal. Depois dessa etapa os esporos foram montados em lâminas permanentes com polivinil-lactoglycerol (PVLG) e PVLG misturado com o reagente de Melzer (1:1, v/v). As lâminas

foram armazenadas a temperatura de 35 °C, por 3-4 dias para fixação (STÜRMER & SIQUEIRA, 2011).

Para identificação taxonômica das espécies, lâminas de cada morfortipo foram analisadas na Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG) da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Uma vez identificados, os fenótipos foram comparados com aqueles descritos nos protocolos de espécies originais (SCHENCK & PEREZ, 1990) e referências on-line de descrição de espécies do INVAM da West Virginia University, EUA (<http://invam.caf.wvu.edu>) e Departamento de Fitopatologia, Universidade de Agricultura em Szczecin, Polônia (<http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/>).

Atendendo às recomendações de Stürmer & Siqueira (2011), pequenas diferenças no fenótipo de esporos foram fundidas numa espécie única, a fim de minimizar a inflação de estimativas de riqueza de espécies. As razões são que alguns esporos de FMA recuperados do campo podem estar em más condições ou com características taxonômicas informativas faltantes, e que a gama de variação morfológica pode ser ambígua por causa do baixo número de esporos. Para cada uma das 75 amostras, três lâminas de morfortipos foram montadas para registrar a presença ou ausência de cada espécie identificada, com vistas a construir uma matriz que permitisse analisar os dados de ocorrência e riqueza de espécies.

#### 4.4 Culturas Armadilhas

De 15 amostras de inóculo nativo (uma amostra de solo com esporos de cada uma das quinze áreas), foram feitas culturas armadilha conforme a metodologia proposta por Morton et al. (1993). As amostras foram conduzidas por quatro a cinco meses, utilizando-se *Brachiaria decumbens* como planta isca. Em vasos de 1000 ml contendo 200 g de inóculo nativo misturadas com 500 gramas de substrato a base de areia e solo de campo em proporções 1:1 e autoclavado duas vezes (115 °C, 45 min). As sementes foram desinfestadas com ácido sulfúrico durante 1 min e enxaguadas com água esterilizada por 2 min para garantir a germinação. As sementes foram colocadas na superfície do substrato de cada vaso e cobertas com solo esterilizado. As plantas foram deixadas em casa de vegetação por cinco meses, fornecendo-se água e aplicando-se 30 ml de solução Hoagland e Arnon (1950) por vaso duas vezes ao mês para nutrição suplementar da planta. A partir do quinto mês cortou-se o fornecimento de água, a fim de estimular maior esporulação, e foram coletadas amostras para obtenção de esporos jovens, os quais

proporcionaram dados para avaliação de ocorrência e riqueza das espécies de FMA.

#### **4.5 Medidas de riqueza específica em espécies de FMA**

Diferenças em comunidades de FMA entre áreas de milho foram analisadas por meio de um conjunto de medições de população. Estimou-se o número total de esporos de FMA (esporos por 50 cm<sup>3</sup> de solo) pela contagem direta de esporos de FMA recuperados de amostras de campo. Frequência de ocorrência (FO) foi calculada, em amostras de solo de campo e culturas armadilhas, pelo número de amostras onde os esporos de uma determinada espécie foram recuperados e foi expressa como uma percentagem. Foi aplicado o abordagem de Zhang et al (2004) e Stürmer & Siqueira (2011), para classificar as espécies de FMA como dominante (FO > 50 %), mais comum (30 % < FO ≤ 50 %), comum (10 % < FO ≤ 30 %) e raras (% FO ≤ 10 %). Para calcular o índice de frequência global (IF), para cada espécie de FMA, foi atribuído o valor de 1, 0.75, 0,5 ou 0,25 para cada espécie se foi dominante, mais comum, comum ou rara, respectivamente. A soma dos valores ao longo das lavouras correspondeu a IF para cada espécie. Portanto, o maior IF foi 3.0 para uma espécie dominante em solos das três lavouras.

#### **4.6 Avaliação de teores de fósforo nas folhas de plantas de milho**

As análises de teores de fósforo nas folhas de milho, constantes em Tedesco et al. (1995) foram feitas da seguinte maneira: as folhas foram colocadas para secagem em estufa de ventilação forçada à temperatura de 60 a 70 °C, até atingir massa constante. A seguir, foram moídas em moinho tipo Willey. O fósforo foi extraído pela digestão em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Primeiro se faz uma pré-digestão a uma temperatura de 180-190 °C em tubos de ensaio de vidro pyrex de 25 x 250 mm marcados a capacidade de 50 ml, para evitar perda de material. Logo se elevou a temperatura a 350-375 °C para obter a digestão completa do material, agitou-se em vortex e se retirou o material digerido para determinação em espectrofotometria de uma alíquota do extrato após de adição de molibdato de amônio e ácido aminonaftolsulfônico e com coloração em solução redutora P-C e P-B (HCl 0.87 M e (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> 4H<sub>2</sub>O).

#### 4.7 Avaliação de atributos físico-químicos do solo

Os métodos para as análises de solos foram aqueles constantes em Tedesco et al. (1995) e Embrapa (1997). As análises físico-químicas foram feitas da seguinte maneira: no Laboratório de Solos e Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina: conteúdos de areia, silte e argila (granulometria) foram feitos pelo método da pipeta; a densidade aparente foi obtida pelo método do cilindro. O fósforo absorvível foi estimado pelo método de resina de troca aniônica com coloração em molibdato de amônio e solução redutora P-C (ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico, sulfito de sódio e metabissulfito de sódio), com leituras em espectrômetro UV-visível.

As análises de rotina foram executadas no laboratório de solos da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) de Chapecó: acidez ativa pelo método potenciométrico em água 1:1 (v:v); carbono orgânico por digestão sulfocrômica (Walkley-Black) e volumetria; potássio e fósforo disponível por extração em solução de Mehlich I com coloração em solução redutora P-C e P-B ( $\text{HCl}$  0.87 M e  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), as leituras em fotometria de chama e espectrometria UV-visível, respectivamente, alumínio, Cálcio e Magnésio trocáveis por extração em solução  $\text{KCl}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  e leituras em espectrofotometria de absorção atômica. Capacidade de troca de cátions pH 7 pela soma de cátions ( $\text{Ca}+\text{Mg}+(\text{H}+\text{AL})+\text{K}$ ).

#### 4.8 Análises estatísticas

Os dados das análises físico-químicas do solo nas lavouras dos três tipos de milho estudados (transgênico, convencional e crioulo) foram submetidas a análise da variância (ANOVA) e teste de Tukey com 5 % de probabilidade de erro, para fazer comparações respectivas.

Análises multivariadas foram aplicadas usando-se o programa R para inferir entre as variáveis de associação de micorrizas arbusculares, atributos físico-químicos do solo e tipos de milho, usando-se análise de correspondência canônica (CCA) para os dados standardizados de resposta variável (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998). Esse modelo analisa relações entre dois grupos de variáveis: o primeiro grupo consiste de variáveis dependentes múltiplas de interesse direto como as variáveis micorrízicas; o segundo é composto de variáveis que podem influenciar as variáveis do primeiro grupo como as variáveis físico-químicas do solo e os tipos de milho. As variáveis que apresentaram colinearidade no gráfico e não explicam as variáveis micorrízicas foram ejetadas para melhor compreensão.

Correlações de Pearson como 5% de significância foram feitas para detectar quais variáveis edáficas estavam correlacionadas com as variáveis micorrízicas. Os dados de número de esporos, % de colonização micorrízica total (arbúsculos e vesículas) % de arbúsculos e % de vesículas foram sometidos a análise da variância (ANOVA) e teste de Tukey com 5 % de probabilidade de erro, para comparações entre eles nos diferentes tipos de milho.

Para verificar semelhança das comunidades de FMA com as lavouras de milho realizou-se análise de todos das 15 áreas usando a escala multidimensional não métrica (NMDS) com base em diferenças de *Jaccard* conforme descrito em CLARKE (1993), tendo em conta a presença/ausência de espécies de FMA para examinar diferenças significativas nas comunidades de FMA nas áreas com diferentes tipos de milho (transgênico, convencional e crioulo). Análise de semelhanças (ANOSIM) foi realizada para testar diferenças significativas entre os grupos de amostras definidas. ANOSIM produz uma amostra estatística (R), que representa o grau de separação entre grupos (0 sim padrão e 1 diferenças dentro dos grupos) e um valor p que avalia a significância quando menor a 0,05. (CLARKE, 1993).

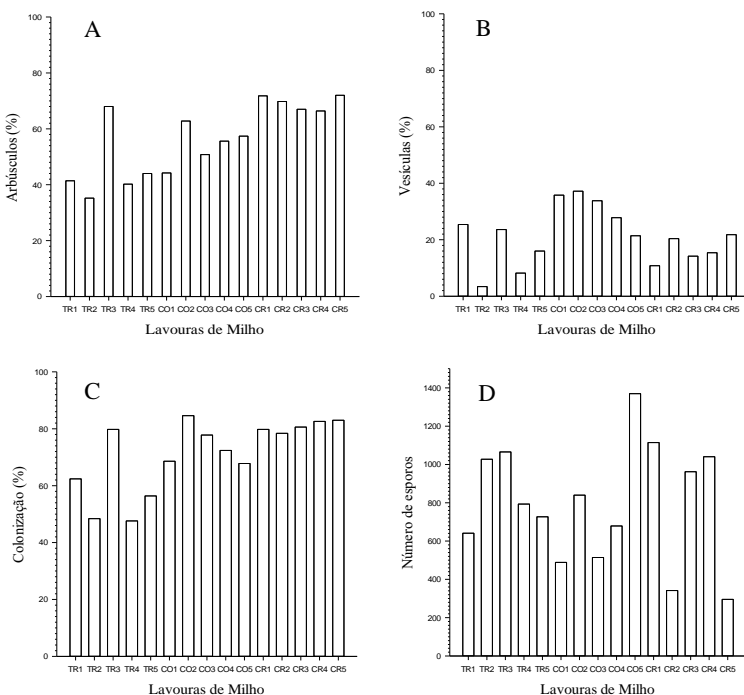
As análises relacionadas às correlações de Pearson entre variáveis físico-químicas do solo, tipos de milho, e variáveis micorrízicas, provas Tukey entre estas variáveis e os análises de correspondência canônica foram realizadas utilizando-se o pacote de vegan (OKSANEN et al., 2013) no programa R 3.1.3. As análises de similaridade NMDS e o ANOSIM da matriz presença-ausência de espécies de FMA nos diferentes tipos de milho foram feitas com o programa Past 3.1 (HAMMER et al., 2001). Os gráficos dos efeitos do fósforo sobre as variáveis micorrízicas em diferentes tipos de milho, das relações entre variáveis de associação micorrízica com as lavouras de milho e das comparações das espécies de FMA e famílias de FMA foram feitas no software SigmaPlot 12.5.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Análise de variáveis micorrízicas (colonização, arbúsculos, vesículas e número de esporos no solo) em milho transgênico, híbrido convencional e crioulo no Oeste Catarinense

As medidas das variáveis de associação micorrízica (arbúsculos, vesículas, colonização radicular e número de esporos) para 75 plantas de milho transgênico, híbrido convencional e milho crioulo (25 por tipo de milho) em 15 lavouras do Oeste Catarinense (Figura 3), mostraram que os de percentagens de colonização e de arbúsculos tiveram respostas similares entre as áreas com lavouras de para cada tipo de milho, apresentando maior homogeneidade dentro das áreas de milho crioulo, e maior heterogeneidade dentro das áreas de milho transgênico. Para número de esporos e percentagem de vesículas, as áreas foram mais heterogêneas dentro de cada tipo de milho avaliado.

**Figura 3.** Percentagens de arbúsculos (A), vesículas (B), colonização radicular (C), e número de esporos (D) em milho Transgênico (TR), Híbrido convencional (CO) e Crioulo (Cr) em lavouras no Oeste de Santa Catarina.



As percentagens de arbúsculos foram mais altas nas áreas com lavouras de milho crioulo, com um índice de 69 %, seguidas pelas percentagens das lavouras de milho híbrido convencional, com 54 %, não apresentando diferenças significativas (Tabela 2) e as mais baixas ocorreram nas lavouras de milho transgênico com valores entre 46 %.

As percentagens de vesículas mostram que os valores mais altos se encontraram nas lavouras de milho híbrido convencional com percentagens de 31 %, diferindo significativamente das lavouras de milho crioulo, com 17 %, e as lavouras de milho transgênico, que com 15 % foram as mais baixas.

As percentagens de colonização foram mais altas nas lavouras de milho crioulo (81 %), seguidas das lavouras de milho híbrido convencional (74 %), e mais baixas, mas sem diferenças significativas, nas lavouras de milho transgênico (59 %).

Os valores de número de esporos em 50 cm<sup>3</sup> de solo não apresentaram diferenças significativas entre as lavouras de milho transgênico, híbrido convencional e crioulo com valores médios de 851, 778 e 751 esporos/cm<sup>3</sup> de solo rizosférico, respectivamente (Tabela 2).

**Tabela 2.** Valores médios de percentagem variáveis micorrízicas em plantas de milho do Oeste Catarinense <sup>(1)</sup>

	Arbúsculos (%)	Vesículas (%)	Colonização (%)	Esporos/50c m <sup>3</sup>
Transgênico	46b	15b	59b	851a
Híbrido convencional	54ab	31a	74a	778a
Crioulo	69a	17b	81a	751a

<sup>(1)</sup> Valores seguidos pela mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey (p 0,05).



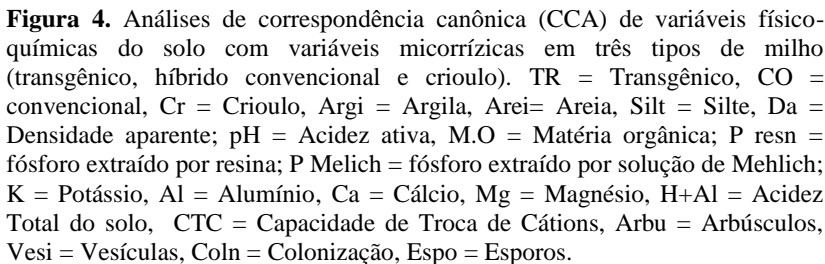
## 5.2 Relações entre variáveis físico-químicas do solo e variáveis micorrízicas em milho transgênico, híbrido convencional e crioulo no Oeste Catarinense

As análises físico-químicas do solo, mostram que variáveis como pH, densidade aparente do solo, fósforo extraído por resina do solo, cálcio e capacidade de troca de cátions, foram diferentes nas lavouras de milho transgênico, e similares no milho convencional e no milho crioulo, cujas áreas apresentam diferenças nas variáveis matéria orgânica, potássio, e magnésio (Tabela 3 e Apêndice L).

**Tabela 3.** Valores médios de atributos físico-químicos do solo cultivado com de três tipos de milho<sup>(1)</sup>

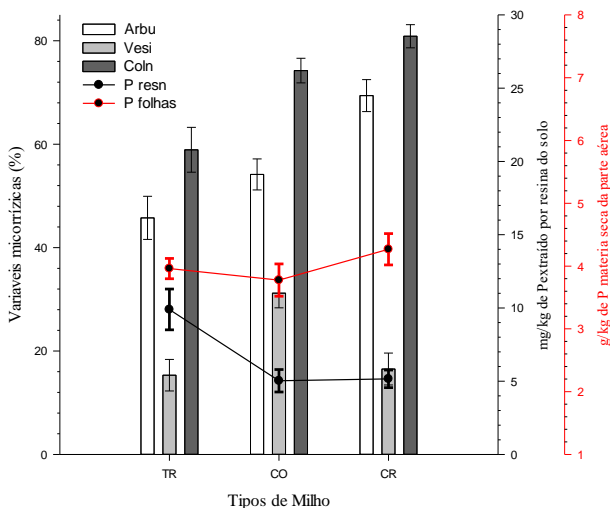
Variáveis físico-químicas	Tipos de Milho		
	Transgênico	Híbrido Convencional	Crioulo
pH em H <sub>2</sub> O	5,2b	5,5a	5,5a
Areia (g kg <sup>-1</sup> )	26a	28a	27a
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	37a	33a	37a
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	37a	39a	36a
M.O. (g kg <sup>-1</sup> )	2,61a	1,98b	2,58a
Da (Mg m <sup>-3</sup> )	1,09b	1,21a	1,12ab
P resina (mg kg <sup>-1</sup> )	9,89a	5,02b	5,15b
P Mehlich (mg dm <sup>-3</sup> )	20,2a	20,9a	16,8a
K trocável (mg dm <sup>-3</sup> )	143b	130b	192a
Al trocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,51a	0,19a	0,31a
Ca trocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	8,0b	13,2a	12,9a
Mg trocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2,9b	4,3a	2,5b
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	4,9a	3,8a	4,4a
CTC pH 7 (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	16,5b	21,7a	20,3ab

<sup>(1)</sup> Valores seguidos pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Da = Densidade aparente; M.O = Matéria orgânica; Pfolha = fósforo da parte aérea seca do milho; P resina = fósforo extraído por resina; P Melich = fósforo extraído por solução de Mehlich; CTC = Capacidade de Troca de Cátions.



A variável ambiental que melhor explica as variáveis micorrízicas é o fósforo extraído por resina (Presn) que estima o fósforo do solo passível de ser absorvido pela planta. As outras variáveis ambientais, tanto de áreas cultivadas como de características físico-químicas do solo não explicam as variáveis micorrízicas na análise de correspondência canônica.

Os teores de fósforo extraído por resina não diferiram entre lavouras de milho híbrido convencional e o crioulo (Figura 5), que tiveram teores de fósforo mais baixos que as áreas de milho transgênico. Mesmo assim, o fósforo acumulado na parte aérea das plantas não apresentou diferença significativa entre os três tipos de milho. Comparando esses dados com os índices de colonização micorrízica nas plantas dos três tipos de milho, o comportamento se inverte para percentagem de colonização micorrízica, com valores mais altos em plantas de milho convencional e crioulo que no milho transgênico. As percentagens de arbúsculos foram maiores no crioulo que nos outros tipos de milho, e a percentagem de vesículas foi mais alta no milho híbrido convencional que nos outros tipos de milho.



**Figura 5** Variáveis de associação micorrízica e níveis de fósforo no solo e nas folhas em três tipos de milho no Oeste Catarinense. Valores médios com erro padrão (5%) e testes de Tukey dos análises de variância ( $p < 0,05$ ) TR = Transgênico, CO = convencional, Cr = Crioulo, Arbu = Arbúsculos, Vesi = Vesículas, Coln = Colonização, Pfolha = fósforo da parte aérea seca do milho; P resina = fósforo extraído por resina.

As correlações de Pearson (Tabela 4) mostram que o pH se correlaciona positivamente com a colonização micorrízica, e que, por outro lado, há correlação negativa com fósforo extraído por resina do solo, acidez total do solo, alumínio e fósforo extraído por solução Melich. A percentagem de arbúsculos e o teor de matéria orgânica estão correlacionados entre si de maneira positiva, mas tem correlação negativa com fósforo extraído por resina e fósforo extraído por solução Melich. A percentagem de vesículas está correlacionada positivamente com as variáveis Densidade Aparente e pH, tendo correlação negativa com o fósforo extraído por resina do solo, potássio, alumínio e acidez total do solo. O número de esporos em 50 cm<sup>3</sup> de solo está correlacionado negativamente com a Densidade Aparente do solo.

**Tabela 4.** Correlações das variáveis micorrízicas com as variáveis físico-químicas do solo <sup>(1)</sup>.

Variáveis Solo	Arbúsculos	Vesículas	Colonização	Esporos
pH em H <sub>2</sub> O	0,34	0,71***	0,58**	-0,41
Areia (g kg <sup>-1</sup> )	-0,30	0,00	-0,11	0,13
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	0,36	-0,12	0,14	0,04
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	0,00	0,18	-0,01	-0,31
M.O. (g kg <sup>-1</sup> )	0,46*	-0,08	0,23	-0,07
Da (Mg m <sup>-3</sup> )	0,04	0,57**	0,19	-0,49*
P resina (mg kg <sup>-1</sup> )	-0,58**	-0,72***	-0,74***	0,22
P Melich (mg dm <sup>-3</sup> )	-0,54**	-0,33	-0,45*	0,04
K trocável (mg dm <sup>-3</sup> )	-0,17	-0,60**	-0,32	0,01
Al trocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	-0,26	-0,73***	-0,51*	0,37
Ca trocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	-0,09	0,21	0,14	0,02
Mg trocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	-0,30	0,35	-0,02	-0,10
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	-0,33	-0,76***	-0,54*	0,32
CTC pH 7 (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	-0,24	0,02	-0,04	0,09

<sup>(1)</sup> Correlações de Pearson com significância de p < 0,001 (\*\*\*), p < 0,01 (\*\*), p < 0,05 (\*), Da = Densidade aparente; M.O = Matéria orgânica; P resina = fósforo extraído por resina; P Melich = fósforo extraído por solução de Mehlich; CTC = Capacidade de Troca de Cátions.

### 5.3 Riqueza específica de Fungos Micorrizas Arbusculares em solo associado a milho transgênico, híbrido convencional e crioulo

Um total de 23 morfotipos de FMA foram recuperados de 75 amostras de solo de campo e 15 amostras de culturas armadilha de todas as lavouras de milho (as fotos de esporos representativos das diversas espécies estão desde o Apêndice B até E). Dentre estas, 18 foram identificadas até o nível de espécie, pertencendo às famílias *Acaulosporaceae*, *Glomeraceae*, *Gigasporaceae*, *Diversisporaceae* e *Archaeosporaceae* (Tabela 5).

Nas 15 de lavouras de milho estudadas, seis espécies eram membros de *Acaulospora* (Gerdemann & Trappe) Berch, seis espécies de *Glomus* (Tul. & Tul.) Gerdemann & Trappe, três de *Dentiscutata* Sieverd., Souza & Oehl, duas de *Gigaspora* Gerdemann & Trappe, uma de *Entrophospora* Ames & Scheneider, uma de *Rhizophagus* Dang, uma de *Cetraspora* Oehl, Souza & Sieverd., uma de *Racocetra* Oehl, Souza & Sieverd., uma de *Diversispora* Walker & Schüßler e uma de *Archaeospora* Morton & Redecker.

*Glomus* e *Acaulospora* representaram 52% de todas as espécies, e 12 espécies foram identificadas nas amostras de solo das lavouras dos três tipos de milho: *Acaulospora marrowie*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora tuberculata*, *Glomus microaggregatum*, *Glomus* sp1, *Glomus* sp2, *Glomus* sp3, *Glomus* sp4, *Dentiscutata heterogama*, *Gigaspora descipiens*, *Diversispora* sp. e *Archaeospora trappei*.

Ocorreram unicamente nas culturas armadilha as espécies *Acaulospora foveata*, *Rhizophagus intraradices* e *Gigaspora gigantea*, e uma espécie, *Dentiscutata cerradensis*, foi recuperada nas culturas armadilha.

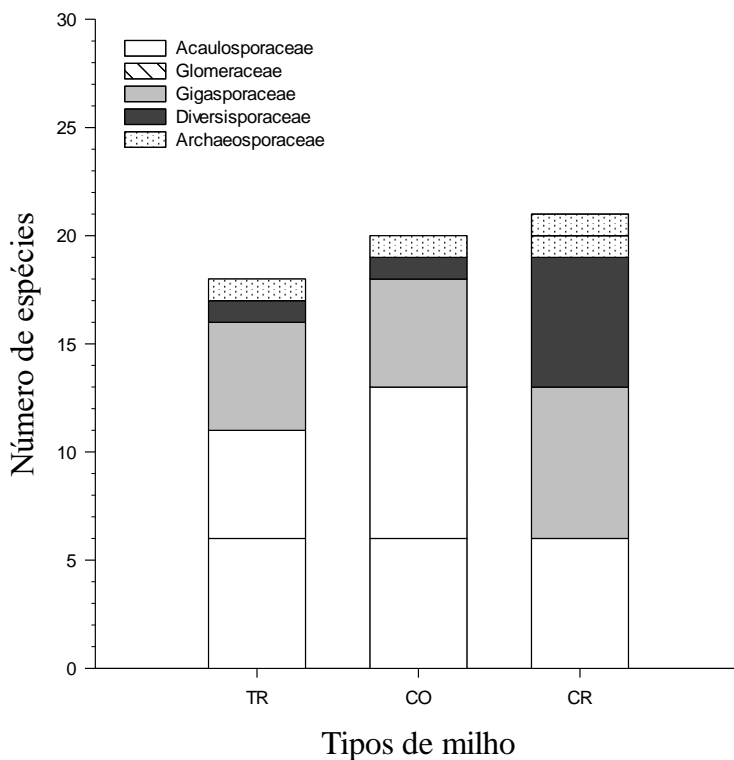
De acordo com as quatro categorias de frequência de ocorrência estabelecidas, três espécies foram dominantes nas três tipos de milho: *Glomus* sp1, *Glomus* sp2 e *Dentiscutata heterogamma* (Tabela 5). O índice de frequência (IF) foi alto para *Acaulospora marrowiae*, *Acaulospora scrobiculata* e *Glomus* sp3, com valores nas amostras de solo de campo de 2,5, 2,75 e 2,25, respectivamente. O IF foi menor que 2 em *Glomus microaggregatum*, *Glomus* sp4, *Gigaspora descipiens*, *Diversispora* sp e *Archaeospora trappei*. As outras oito espécies apresentaram valores de IF menores ou iguais a 1.

**Tabela 5.** Frequência da ocorrência e frequência relativa das espécies de fungos micorrízicos arbusculares em solo de campo e culturas armadilhas de lavouras de milho Transgênico (TR), Híbrido convencional (CO), e Crioulo (CR) do Oeste de Santa Catarina. Frequência da ocorrência foi categorizada em dominante (D), mais comum (MC), comum (C), raras(R), e índice de frequência global (IF).

	Solo de campo				Cultura armadilha			
	TR	CO	CR	IF	TR	CO	CR	IF
<b>Familia Acaulosporaceae</b>								
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos	-	-	-	0	-	C	-	0,5
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & Schenck	C	C	-	1	C	-	MC	1,25
<i>Acaulospora morrowiae</i> Spain & Schenck	MC	MC	D	2,5	-	D	MC	1,75
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	MC	D	D	2,75	-	MC	D	1,75
<i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe	R	R	R	0,75	C	-	-	0,5
<i>Acaulospora</i> sp1*	C	R	R	1	MC	-	C	1,25
<i>Entrophospora infrequens</i> (Hall) Ames & Schneider	-	-	R	0,25	C	-	C	1
<b>Familia Glomeraceae</b>								
<i>Glomus aggregatum</i> Schenck & Smith	-	C	R	0,75	-	C	D	1,5
<i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & Oleixa	C	C	C	1,5	-	MC	D	1,75
<i>Glomus</i> sp1*	D	D	D	3	MC	D	D	2,75
<i>Glomus</i> sp2*	D	D	D	3	-	-	C	0,5
<i>Glomus</i> sp3*	C	D	MC	2,25	MC	D	D	2,75
<i>Glomus</i> sp4*	C	C	C	1,5	C	-	C	1
<i>Rhizophagus intraradices</i> (Schenck & Smith.) Walker & Schüßler	-	-	-	0	-	C	D	1,5
<b>Familia Gigasporaceae</b>								
<i>Cetraspora pellucida</i> (Nicolson & Scheck) Oehl, Souza & Sieverd.	-	C	R	0,75	C	C	C	1,5
<i>Dentiscutata cerradensis</i> (Spain & Miranda) Sieverd., Souza & Oehl	-	R	R	0,5	-	-	-	0
<i>Dentiscutata heterogama</i> (Nicolson & Gerd.) Sieverd., Souza & Oehl	D	D	D	3	C	D	-	1,5
<i>Dentiscutata scutata</i> (Walker & Dieder) Sieverd., Souza & Oehl	C	C	C	1,5	-	-	MC	0,75
<i>Gigaspora decipiens</i> Hall & Abbott	R	MC	MC	1,75	-	C	D	1,5
<i>Gigaspora gigantea</i> (Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe	-	-	-	0	-	-	C	0,5
<i>Racocetra verrucosa</i> (Koske & Walker) Oehl, Souza & Sieverd.	-	R	R	0,5	C	-	-	0,5
<b>Familia Diversisporaceae</b>								
<i>Diversispora</i> sp1*	C	C	R	1,25	C	-	D	1,5
<b>Familia Archaeosporaceae</b>								
<i>Archaeospora trappei</i> (Ames & Linderman) Morton & Redecker	R	C	C	1,25	-	D	C	1,5

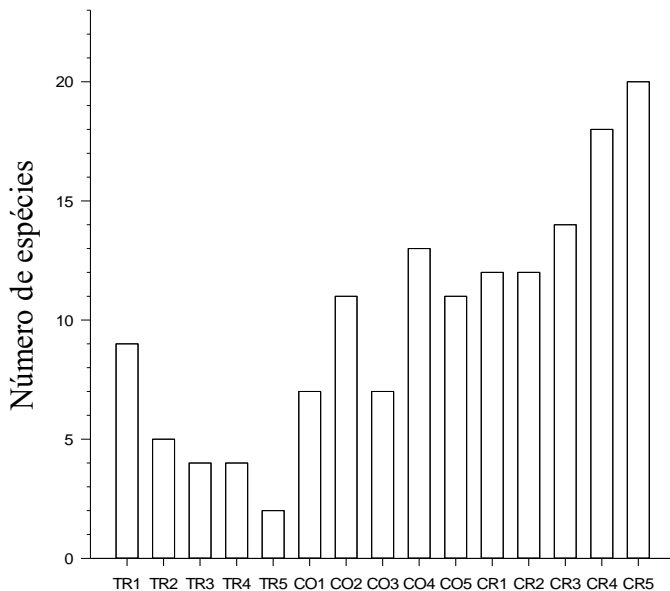
\* Espécies não identificadas

As lavouras que apresentaram o maior número de espécies foram as de milho crioulo, seguidas das lavouras de milho híbrido convencional e de milho transgênico com 21, 20 e 18 espécies, respectivamente. A família *Acaulosporaceae* apresentou seis espécies nos três tipos de milho, *Glomeraceae* apresentou sete espécies nas lavouras de milho híbrido convencional e de milho crioulo e cinco espécies nas lavouras de milho transgênico, A família *Gigasporaceae* apresentou seis espécies nas lavouras de milho crioulo e cinco espécies nas lavouras de milho transgênico e milho híbrido convencional. *Diversisporaceae* e *Archaeosporaceae* apresentaram uma espécie em todas as lavouras (Figura 6).



**Figura 6.** Proporção de espécies de fungos micorrízicos arbusculares por família taxonômica nas lavouras de milho Transgênico (TR), Híbrido convencional (CO) e Crioulo (CR)

A ocorrência de espécies foi mais alta nas áreas com milho crioulo, com valores entre 12 e 20 espécies, seguidas das lavouras de milho híbrido convencional, que tinham entre sete e 13 espécies. Os valores mais baixos, entre dois e nove (Figura 7), ocorreram nas lavouras de milho transgênico. Houve heterogeneidade dentro das áreas de cada tipo de milho.



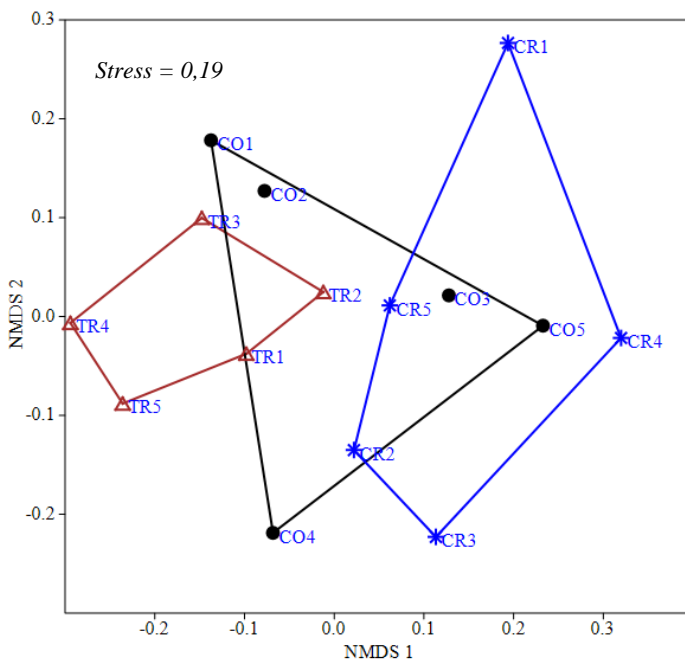
### Lavouras de Milho

**Figura 7.** Ocorrência de espécies de fungos micorrízicos arbusculares nas lavouras de milho Transgênico (TR), Híbrido convencional (CO) e Crioulo (CR)

A variação entre comunidades de FMA nas áreas com lavouras de milho transgênico, convencional e crioulo foram visualizadas usando a matriz presença/ausência de espécies (Apêndice J e K) e usando a escala multidimensional não métrica (NMDS) com base em diferenças de *Jaccard*,. Separaram-se as comunidades em três clusters com uma dissimilaridade apoiada em análise ANOSIM. Os valores o ordenamento NMDS mostram dissimilaridade entre os grupos formados pelas lavouras de milho transgênico e os grupos conformados pelas lavouras de milho crioulo, havendo similaridade, em duas de suas áreas, com o grupo do milho híbrido convencional. A dissimilaridade é menor entre



os grupos conformados pelas lavouras do milho crioulo e milho híbrido convencional, apresentando duas lavouras de cada grupo compartilhadas no outro (Figura 5). No entanto, a análise de ANOSIM ( $R = 0,1116$ ,  $p = 0,1341$ ) mostra que a variação é maior dentro dos grupos que entre os grupos, e que não existam diferenças significativas entre as áreas com lavouras de milho transgênico, convencional e crioulo.



**Figura 5.** Agrupamento usando a escala multidimensional não métrica (NMDS) com base em diferenças de *Jaccard*, ANOSIM ( $R$  de: 0,1116  $p=0,1341$ ) para presença e ausência de espécies de FMA associadas ao solo de plantas de milho. A nomenclatura das amostras refere-se às propriedades dos três tipos de milho (TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo, ver Tabela 1.).



## 6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que, nas lavouras de milho do Oeste Catarinense avaliadas, a associação micorrízica responde a valores baixos de fósforo disponível no solo, situação em que ocorre maior percentual de colonização e presença de arbúsculos nas raízes das plantas de milho. Carrenho et al. (2010) demonstraram que o milho é bom hospedeiro para fungos micorrízicos arbusculares, em razão de seu amplo sistema radicular, alta capacidade fotossintética e elevada demanda de fósforo.

No solos cultivados com milho transgênico havia valores altos de fósforo extraído por resina, diferentemente do encontrado nas áreas com milho híbrido convencional e com milho crioulo, onde os valores foram mais baixos. Tal comportamento poderia ser explicado pelo tipo de adubação feita nas propriedades com milho transgênico (Tabela 1). Nessas áreas as formulações e doses de fertilizantes foram altas em fósforo (9-33-12), em comparação com as lavouras com de milho híbrido convencional (8-20-20 ou 5-20-20) e com o milho crioulo, em cujas áreas as fontes de adubação foram orgânicas, com cama de aviário, que tem proporções equivalentes a 25-28-24. Isso resultou em acúmulo de fósforo na camada de 0 a 10 cm do solo (SCHERER, et al., 2009), ainda que a amostragem tenha sido feita na camada de 0 a 20 cm, onde as comunidades de FMA interagem com as plantas (Hart et al., 2015). Mesmo com tais diferenças, os teores de fósforo na parte aérea das folhas dos três tipos de milho não apresentaram diferenças significativas.

Esses resultados podem decorrer do fato de o milho crioulo e o híbrido convencional terem apresentado valores altos de colonização micorrízica, em comparação com o milho transgênico. Isso confirma que a associação micorrízica responde a valores baixos de fósforo no solo, o que é refletido pela quantidade do nutriente extraída por resina. Tais condições aumentam a colonização por FMA, o que contribui para a planta manter os níveis de fósforo exigidos para um bom crescimento, dado que as raízes, ao exsudar substâncias funcionais, como ácidos orgânicos, fosfatases e compostos fenólicos, estimulam a colonização e o desenvolvimento da micorriza frente à baixa disponibilidade de fósforo (GIANINAZZI-PEARSON et al., 1989; SIQUEIRA et al., 1991; MARSCHNER, 1998; LAMBAIS, 2000; HINSINGER, 2001; KOIDE & MOSSE, 2004). Comportamento similar foi observado em 12 genótipos de milho em solo do Cerrado com baixa disponibilidade de fósforo, nos quais os valores de colonização e produção de arbúsculos

foram mais altos, o que se traduziu em um alto teor de fósforo na parte aérea da planta (REIS et al., 2008).

As percentagens de vesículas nas raízes estão relacionadas com espécies de FMA da família *Gigasporaceae*. Essas espécies foram particularmente mais dominantes nos solos com milho convencional, onde os valores de percentagens de vesículas foram os mais altos, e nos solos de milho crioulo onde os valores de percentagem de vesículas foram baixos, não havendo um padrão para explicar as diferenças.

O pH do solo foi outro atributo que se correlacionou com a associação micorrízica, mostrando que em valores de pH mais baixos a colonização por FMA diminui. Atributos do solo associados a pH baixo, como o aumento da concentrações de alumínio trocável e a acidez total do solo, afetam o sistema radicular das plantas, inibindo o crescimento das raízes e limitando a absorção de nutrientes (YANG, 1996; CARDOSO et al., 2010). Nos solos de milho transgênico o pH foi mais baixo, em comparação com as áreas com milho híbrido convencional e com milho crioulo, apresentando também valores de percentagens de colonização mais baixos.

A matéria orgânica do solo, por sua vez, teve uma correlação positiva com a frequência de arbúsculos, as estruturas micorrízicas responsáveis da troca de nutrientes. Os valores mais altos de matéria orgânica foram encontrados nas áreas com milho transgênico e milho crioulo. Nas áreas de milho crioulo são aplicados adubos orgânicos, o que favorece a microbiota do solo de forma muito mais marcante que os adubos químicos usados nas áreas com milho transgênico e com milho híbrido convencional, nos quais a matéria orgânica é mantida principalmente pelos resíduos da safra anterior ou de eventuais plantas espontâneas de inverno. Os processos de mineralização e transformação da matéria orgânica pelos microrganismos do solo liberam compostos biologicamente ativos, entre eles, vitaminas e reguladores de crescimento de plantas, que geralmente promovem o crescimento de hifas dos FMA (GRYNDLER et al., 2003; JARAMILLO, 2010). Tais condições na rizosfera das plantas de milho facilitam a colonização e proliferação dos arbúsculos, contribuindo na absorção de nutrientes na planta. Avaliações de práticas como aplicação de esterco e cultivo de plantas de cobertura em solos com baixa diversidade de FMA poderiam verificar tal hipótese.

A densidade aparente teve uma correlação negativa com o número de esporos nos solos, mas os resultados mostram que as diferenças de esporos entre os três tipos de milho avaliados não são significativas. A densidade aparente afeta negativamente as micorrizas

quando seus valores são altos, a partir de valores de  $1,3 \text{ Mg m}^{-3}$  (JARAMILLO, 2011), situação em que há compactação do solo. Uma menor densidade aparente reflete maior espaço poroso no solo, e, portanto maior possibilidade para o crescimento e produção de hifas micorrízicas, as quais produzem os esporos no solo. Os valores nas áreas com milho híbrido convencional e com milho crioulo foram altos em comparação com as áreas com milho transgênico, porém se encontram em níveis aceitáveis, que indicam uma boa porosidade. Os FMA, em especial os Glomales, produzem uma glicoproteína chamada glomalina, que está fortemente associada a processos de agregação das partículas do solo (WRIGHT et al., 1999). Há relatos de que a glomalina melhora a retenção e infiltração da água no solo, por proporcionar melhor agregação e maior espaço poroso (BIRD et al., 2002), o leva a menores valores da densidade aparente.

Nos análises da diversidade de FMA, foram identificadas 23 espécies associadas às raízes de milho. Tal número é semelhante àqueles encontrados em outros estudos com diferentes tipos milho em distintas regiões do mundo. Por exemplo, Perez-Luna et al. (2012) encontraram 23 morfoespécies de FMA em lavouras de Chiapas, México; Serralde & Ramirez (2004) encontraram 24 morfotipos de FMA associados com milho em solos ácidos da zona sul oriental da Colômbia; e Mathimaran et al. (2007) identificaram 18 espécies de FMA em solos com rotação milho - crotalária. Resultados diferentes foram encontrados em Carrenho et al. (2002) com 14 espécies de FMA em um experimento com culturas armadilha usando solo de uma área cultivada com milho, e Oehl et al. (2003) que encontraram baixa diversidade de FMA em monoculturas contínuas de milho, em comparação com áreas cultivadas durante sete anos com rotação e moderada aplicação de insumos.

Esses resultados em lavouras de milho mostram que há diferenças na riqueza específica de espécies de FMA de acordo com o tipo de milho, manejo do cultivo e tipo de solo. Nos três tipos de milho avaliados no Oeste de Santa Catarina (transgênico, híbrido convencional e crioulo), o número de espécies e composição das comunidades apresentou menor dissimilaridade entre o milho convencional e o milho crioulo, mas o milho transgênico apresentou uma dissimilaridade com o milho crioulo, com menor número de espécies presentes, e pouca dissimilaridade com o milho convencional. Oliveira et al. (2009) sugerem que o nível de eficiência na absorção de fósforo dos tipos de milho pode influenciar a comunidade de FMA na rizosfera. Isso poderia explicar o comportamento do milho transgênico, visto que a diferença da ocorrência de espécies micorrizas pode depender da resposta do

genótipo de milho sob estresse de fósforo De acordo com Lynch & Whipps (1990), Marschner (1998) e Barea et al. (2005), os exsudatos radiculares são determinantes na diversidade de microrganismos na rizosfera, e eles são liberados de acordo com as necessidades de fósforo na planta. Assim, as lavouras de milho transgênico, que tiveram os níveis de fósforo extraído por resina mais altos em comparação com as lavouras dos outros dois tipos de milho, teriam, portanto uma menor quantidade de exsudatos radiculares e menor dependência de uma associação micorrízica. Isso poderia explicar o menor número de espécies associadas a este genótipo que ao milho crioulo ou ao híbrido convencional, que estavam em solos com teores de fósforo mais baixos, e, portanto com necessidade de liberar mais exsudatos radicais que permitissem uma maior associação com os FMA. Estudos de quantidade de exsudatos radicais em cada tipo de milho poderiam confirmar esta hipótese.

Condições de alto conteúdo de fósforo disponível para a planta no solo, se persistentes no tempo, poderiam diminuir as espécies de FMA presentes no solo, como no caso das áreas com milho transgênico, registros sobre altas quantidades de adubação rica em fósforo e com utilização de fungicidas mostram efeitos negativos sobre os FMA (GOSLING et al., 2006, BORIELLO et al., 2012). Essa perda da diversidade dos FMA pode prejudicar a produtividade do solo, aumentando a instabilidade e comprometendo a sustentabilidade do agroecossistema (VAN DER HEIJDEN et al., 1998).

O trabalho de Carrenho et al. (2001), em cultivos sucessivos de milho no estado de São Paulo, mostrou que o número de espécies de FMA aumentou progressivamente do primeiro ano de cultivo para o terceiro, até um total de 25 taxa. Isso significa que, nas lavouras avaliadas neste trabalho, o número de espécies pode variar para as próximas safras, como resultado do manejo dos cultivos. Naquele mesmo trabalho, Carrenho et al. (2001) encontraram dez espécies do gênero *Glomus*, oito de *Scutellospora*, cinco de *Acaulospora*, uma de *Gigaspora* e uma de *Entrophospora*. Esses dados são similares aos encontrados no presente trabalho no Oeste de Santa Catarina, no qual *Glomeraceae*, *Acaulosporaceae* e *Gigasporaceae* foram as famílias mais representativas. Benedetti et al. (2005) observaram que os gêneros *Acaulospora* e *Glomus* foram os mais abundantes em culturas de milho numa área experimental do Rio Grande do Sul, resultados similares ao presente trabalho, no qual *Glomus*, *Acaulospora* e *Dentiscutata* foram os gêneros que apresentaram espécies dominantes.

A riqueza de espécies de FMA e sua associação com as plantas de milho tiveram resultados mais altos no milho crioulo e no milho híbrido convencional que no milho transgênico. As razões para isso são diversas e para busca-las deveriam ser consideradas variáveis como maior matéria orgânica, maior pH e menor disponibilidade de fósforo no solo, condições que estimularam a colonização e a produção de arbúsculos nas raízes do milho. A maior disponibilidade de fósforo nos solos com lavouras de milho transgênico pode não ter estimulado a produção de exsudados radiculares, causando menor colonização e menor diversidade em relação às lavouras com os outros tipos de milho.

O conjunto de procedimentos e recurso tecnológicos associados aos sistemas de produção de milho, como o uso de herbicidas e fungicidas afetam a riqueza de espécies e associação dos FMA com o milho (GOSLING et al., 2006, BORIELLO et al., 2012). Estes “pacotes tecnológico”, associados especialmente a milho transgênico e híbrido convencional, tem consequências negativas sobre a comunidade de microrganismos do solo. O uso de fertilizantes com altos níveis de fósforo também pode suprir as necessidades da planta, que não precisando de ajuda dos FMA, diminuem a colonização de suas raízes pelos simbiontes fúngicos. As consequências a longo prazo podem ser negativas, pela dependência de adubos, que tem altos custos, e pelo dano às populações de FMA, que podem diminuir ou desaparecer. Utilização de adubos orgânicos, adubos verdes, uso moderado de herbicidas ou mesmo o não uso e controle manual de plantas espontâneas poderiam incrementar as populações de microrganismos do solo, incluindo os FMA, fazendo do ecossistema solo um lugar com capacidade de resiliência, sustentável e mais produtivo, assim trabalhos dirigidos neste sentido poderiam provar esta hipóteses.





## 7. CONCLUSÕES

O manejo associado ao milho, principalmente as formas e doses de adubação e a utilização de herbicidas e fungicidas, influi na comunidade e associação de FMA.

A associação dos FMA em lavouras milho com diferentes teores de fósforo disponível no solo permitiu que os teores de fósforo na parte aérea das plantas de milho não tivessem diferenças significativas.

Fósforo extraído por resina tem melhor capacidade de previsão, disponibilidade alta do elemento inibe os FMA.



## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. Infectivity and effectiveness of five endomycorrhizal fungi: competition with indigenous fungi in field soils. *Austr. J. Agric. Res.*, 32, p. 621-630, 1981.
- ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v.35, p.121-150, 1991.
- AGRICULTURA FAMILIAR. O Popular, Goiânia, n. 845, p.12, 2004. Suplemento do Campo.
- ALLEN, M. F. The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into the 20th century and a peek into the 21st. *Mycological Research*, New York, v. 100, n. 7, p. 769-782. 1996.
- AMES, R.N. Mycorrhiza development in onion in response to inoculation with chitin-decomposing actinomycetes. *New Phytol* 112:423–427. 1989.
- ARAÚJO, P. M.; NASS, L. L. Caracterização e avaliação de populações de milho crioulo. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 59, n. 3, p. 589-593, 2002.
- AZCÓN C, BARÉA J. Interacciones de las micorrizas arbusculares como microorganismos de la rizósfera. Departamento de Microbiología. Estación experimental del Zaidín, CSIC, Granada, España. *En: Guerrero Ed. Micorrizas. Recurso biológico del suelo. Fondo FEN Colombia*. 1996. p. 49-63.
- BAREA, J.M., AZCON, R., AZCON-AGUILAR, C. Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. In: Buscot, F., Varma, S. (Eds.), *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 2005. p. 195–212.
- BAKKER, M.G., MANTER, D.K., SHEFLIN, A.M., WEIR, T.L. AND VIVANCO, J.M. Harnessing the rhizosphere microbiome through plant breeding and agricultural management. *Plant and soil*, v.360, n. 1-2, p. 1-13. 2012.

- BEGON, M.; HARPER, J.L.; TOWNSEND, C.R. Ecology: Individuals, populations and communities. 3.Ed. Oxford, Blackwell, 1996. 1068 p.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C.R. & HARPER, J. L. Ecology: from individuals to eco-systems. 4. ed. Malden: Blackwell Publishing, 2005. 738 p.
- BENEDETTI, T.; ANTONIOLLI, Z. I.; GIRACCA, E. M. N.; STEFFEN, R. B. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares na cultura do milho após uso de espécies de plantas de cobertura de solo. Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages, v. 4, n. 1, p. 44-51, 2005.
- BEVER, J.D.; MORTON, J.B.; ANTONOVICS, J.; SCHULTZ, P.A. Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. Journal of Ecology, v. 84, p.71-82. 1996.
- BEVER, J. D., PRINGLE, A. & SCHULTZ, P. A. Dynamics within the plant – arbuscular mycorrhizal fungal mutualism: testing the nature of community feedback. I “Mycorrhizal Ecology” (M. G. A. van der Heijden & I. R. Sanders, eds.), p. 267-292. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York. 2002
- BERBARA, R. L. L., DE SOUZA, F. A. & FONSECA, H. M. A. C. Fungos Micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. In “Nutrição Mineral de Plantas” (M. S. Fernandes, ed.), p. 53-88. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, MG, Brazil. 2006.
- BIELESKI, R. L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. Annual review of plant physiology, v.24, n.1, p 225-252. 1973
- BIRD, S. B.; HERRICK, J. E.; WANDER, M. M. AND WRIGHT, S. F. Spatial Heterogeneity of Aggregate Stability and Soil Carbon in Semi-Arid Rangeland Environmental Pollution, v. 116, n. 3, p.445-455. 2002.

- BLACKWOOD, C.B.; BUYER, J.S. Soil microbial communities associated with Bt and non-Bt corn in three soils. *J. Environ. Qual.* v. 33, p. 832–6. 2004.
- BOEF, W. S; THIJSSSEN, M.; OGLIARI, J.B.; STHAPIT, B. Biodiversidade e Agricultura: fortalecendo o manejo comunitário. 1. ed. Porto Alegre: L&PM, 2007. v. 1. 271p.
- BOLAN, N. S. A Critical-Review on the Role of Mycorrhizal Fungi in the Uptake of Phosphorus by Plants. *Plant & Soil.* v. 134, p. 189-207. 1991.
- BORRIELLO, R., E. LUMINI, M. GIRLANDA, P. BONFANTE, AND V. BIANCIOTTO. "Effects of different management practices on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in maize fields by a molecular approach." *Biology and Fertility of Soils* v.48, n. 8, p. 911-922. 2012.
- BRUNDRETT, M. Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research*, Toronto, v.21, p.171-313 1991
- CAMPOS, R.C.; HERNÁNDEZ M.I.M. The Importance of Maize Management on Dung Beetle Communities in Atlantic Forest Fragments. *PLoS ONE* 10(12): e0145000. 2015. doi:10.1371/journal.pone.0145000
- CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, I. M.; NOGUEIRA, M. A.; MALUCHE-BARETTA, C. R. D.; PAULA, A. L. M. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. N.; TSAI, S. M. *Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil*. 1. ed. Lavras: UFLA; 2010, p. 153- 214.
- CARPENTER-BOGGS L, LOYNACHAN, T.E., STAHL, P.D. Spore germination of *Gigaspora margarita* stimulated by volatiles of soil-isolated Actinomycetes. *Soil Biol Biochem* v. 27, p.1445–1451.1995.
- CARRENHO, R.; SILVA, E. S.; TRUFEM, S. F. B.; BONONI, V. L. R. Successive cultivation of maize and agricultural practices on root colonization, number of spores and species of arbuscular

- mycorrhizal fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 262-270, 2001.
- CARRENHO, R., S.F.B. TRUFEM & V.L.R. BONONI. Effects of using different host plants on the detected biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi from an agroecosystem. *Revista Brasileira de Botânica*. v.25, n. 1, p. 95-101. 2002.
- CARRENHO, R., TRUFEM, S. F. B., BONONI, V. L. R., & SILVA, E. S. The effect of different soil properties on arbuscular mycorrhizal colonization of peanuts, sorghum and maize. *Acta Botanica Brasílica*. v. 21, n. 3, p. 723-730. 2007.
- CARRENHO, R.; GOMES-DA-COSTA, S. M.; BALOTA, É. L.; COLOZZI-FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agrossistemas brasileiros. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Ed.). *Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil*. Lavras: UFLA, 2010. p. 215-249.
- CASTALDINI, M.; TURRINI, A.; SBRANA, C.; BENEDETTI, A.; MARCHIONNI, M.. Impact of Bt corn on rhizospheric and soil eubacterial communities and on beneficial mycorrhizal symbiosis in experimental microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, p. 6719-6729. 2005
- CASTRO FILHO, C.; LOURENÇO, A.; GUIMARÃES, M. D. F., & FONSECA, I. C. B. Aggregate stability under different soil management systems in a red latosol in the state of Parana, Brazil. *Soil and Tillage Research*. v. 65, n. 1, p. 45-51. 2002.
- CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. *Ecofisiologia de cultivos anuais: Trigo, milho, soja, arroz e mandioca*. São Paulo: Nobel, 1999, 126 p.
- CHAUDHARY VB, LAU MK, JOHNSON NC. Macroecology of microbes — biogeography of the Glomeromycota. In: Varma A (ed) *Mycorrhiza: genetics and molecular biology, eco-function, biotechnology, eco-physiology, structure and systematics*. Springer-Verlag, Berlin, p. 529-562. 2008.

- CHEEKE, T. E.; B. A.; PACE; T. N. ROSENSTIEL; M. B. CRUZAN.  
The influence of fertilizer level and spore density on arbuscular mycorrhizal colonization of transgenic Bt 11 maize ( *Zea mays* ) in experimental microcosms. FEMS Microbiology Ecology v. 75, p. 304-312. 2011.
- CHEEKE, T. E.; ROSENSTIEL, T. N.; CRUZAN, M. B. Evidence of reduced arbuscular mycorrhizal fungal colonization in multiple lines of Bt maize. American Journal of Botany, v. 99, n.4, p. 700-707. 2012.
- CLAPP, J. P., HELGASON, T., DANIELL, T. J. & YOUNG, J. P. W. Genetic studies of the structure and diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. In “Mycorrhizal Ecology” (M. G. A. VAN DER HEIJDEN & I. R. SANDERS, eds.), p. 201-224. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York. 2002.
- CLARKE, K.R. Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. Australian Journal of Ecology v.18, p. 117-143. 1993.
- CTNBio – Comissão Técnica Nacional De Biossegurança - Tabela Geral de Plantas Geneticamente Modificadas Aprovadas Comercialmente. 2014. Disponível em: [http://www.ctnbio.gov.br/upd\\_blob/0001/1873.pdf](http://www.ctnbio.gov.br/upd_blob/0001/1873.pdf) . Acesso em 15 Jun. 2015.
- COSTA, F. M.; SILVA, N.C.A.; OGLIARI, J.B. Maize diversity in Southern Brazil: indication of a microcenter of *Zea mays* L. Genetic Resources and Crop Evolution, v. 63, p. 1-20. 2016.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Séries históricas. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_03\\_11\\_14\\_07\\_48\\_boletim\\_graos\\_marco\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_03_11_14_07_48_boletim_graos_marco_2015.pdf). Acesso em: 25 de junho de 2015.
- CUENCA G. & MENESES E. Diversity patterns of arbuscular mycorrhizal fungi associated whit cacao in Venezuela. Plant and Soil. Kluwer Academic Publishers. v. 183, p. 315-322. 1996.

- DAFT, M. J.; NICOLSON, T. H. The effect of *Endogone mycorrhizae* on plant growth. IV. Quantitative relationships between the growth of the host and the development of the endophyte in tomato and maize. *New Phytol.* v. 71, p. 287-295. 1972.
- DAVISON, J.; M. MOORA; M. ÖPIK; A. ADHOLEYA; L. AINSAAR; A. BÂ; S. BURLA; A. G. DIEDHIOU; I. HIIESALU; T. JAIRUS; N. C. JOHNSON; A. KANE; K. KOOREM; M. KOCHAR; C. NDIAYE; M. PÄRTEL; Ü. REIER; Ü. SAKS; R. SINGH; M. VASAR; AND M. ZOBEL. Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemismo. *Science* v. 28, p. 349-970. 2015. [DOI: 10.1126/science.aab1161].
- DE MASI, M.A.; XOKLENG, N. 2.860 a.C.: as terras altas do sul do Brasil, transcrições do seminário de Arqueologia e Etnohistória. Tubarão: Editora da Unisul, 2006. 218p.
- DONEGAN, K.K.; PALM, C.J.; FIELAND, V.J.; PORTEOUS, L.A.; GANIO, L.M.; SCHALLER, D.L. Changes in levels, species and DNA fingerprints of soil microorganisms associated with cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* endotoxin. *Appl Soil Ecol.* v. 2, p. 111–24. 1995.
- DOUDS, D. D. & MILLNER, P. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture Ecosystems & Environment.* v. 74, p. 77-93. 1999.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. Manual de métodos de análises de solo. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.
- EPA [U. S. Environmental Protection Agency]. Pesticides: Regulating biopesticides, plant incorporated protectants, current & previously registered section 3 PIP registrations. 2011 Website [http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/pip\\_list.htm](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/pip_list.htm).
- EPAGRI. Milho. Variedades de Polinização aberta. Disponível em: [http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/10/Milho\\_Varieties\\_de\\_polinizacao\\_aberta.pdf](http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/10/Milho_Varieties_de_polinizacao_aberta.pdf). Acesso em: 29 de junho de 2015.



- FERMENT, G.; ZANONI, M.; BRACK, P.; KAGEYAMA, P.; NODARI, R. O. Coexistência : o caso do milho. Brasília : MDA, 2009. 56 p.
- FLEXNER JL, LIGHTHART B, CROFT BA. The effects of microbial pesticides on non-target, beneficial arthropods. *Agric Ecosyst Environ.* v.16, p. 203-56. 1986.
- FURLAN, V., AND J. A. FORTIN. Effects of light intensity on the formation of vesicular-arbuscular endomycorrhizas on *Allium cepa* by *Gigaspora catilosporati*. *New Phytol.* v.79, p. 335-340. 1977.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, v.46, p. 235-244. 1963.
- GIANINAZZI-PEARSON, V., BRANZANTI, B., GIANINAZZI, S. In vitro enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant flavonoids. *Symbiosis.* v.7, p. 243–255. 1989.
- GIANINAZZI, S.; ARMELLE, G.; BINET, M.; TUINEN, D.; VAN.; REDECKER, D.; WIPF, D. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza.* v. 20, p. 519-530. 2010.
- GIOVANNETTI, M. Fungal Spore Germination and Pre-symbiotic Mycelial Growth – Physiological and Genetic Aspects. En: H. Koltai, Y Kapulnik, editors. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Second Edition. Israel. p. 14-16. 2010.
- GIOVANNETTI, M.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologia*, New York, v.98, n.7, p.705-715, 1994.
- GOSLING, P., HODGE, A., GOODLASS, G., BENDING, G. D. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agric Ecosyst Environ* v. 113, p. 17–35. 2006.

- GRAHAM, J.H.; LINDERMAN, R.G. & MENGE, J.A. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal *Glomus* spp. in relation to root colonization and growth of troyer citrange. *New Phytol.* v. 91, p. 183-189, 1982.
- GRIFFITHS BS, CAUL S, THOMPSON J, BIRCH ANE, SCRIMGEOUR C, ANDERSEN MN, A comparison of soil microbial community structure, protozoa and nematodes in field plots of conventional and genetically modified maize expressing the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. *Plant Soil.* v. 275, p. 135-46. 2005
- GRYNDLER, M., JANSÁ, J., HRŠELOVÁ, H., CHVÁTALOVÁ, I., & VOSÁTKA, M. Chitin stimulates development and sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology.* v. 22, n.3, p. 283-287. 2003.
- GUERRERO, E; RIVILLAS, C., RIVERA E. Perspectiva de manejo de la micorriza arbuscular en agroecosistemas tropicales. En: Guerrero F. Ed. *Micorrizas: Recursos Biológicos del Suelo.* Fondo FEN Colombia. Bogotá, Colombia. 1996. p. 181-206.
- GUPTA, V. V. S. R., & GERMIDA, J. J. Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. *Soil Biology and Biochemistry*, 20(6), 777-786. 1988.
- HAMMER, O., HARPER, D.A.T., RYAN, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia electronica.* v. 4, n. 1. p 9. 2001.
- HART, M.M., ALEKLETT, K., CHAGNON, P.L., EGAN, C., GHIGNONE, S., HELGASON, T., LEKBERG, Y., ÖPIK, M., PICKLES, B.J. AND WALLER, L. Navigating the labyrinth: a guide to sequence-based, community ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *The New phytologist.* v. 207, n. 1, p. 235-247. 2015

- HAYMAN, D. S. Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhizae in wheat as influenced by season and soil treatment. *Trans. Br. Mycol. Soc.* v. 54, p. 53-63. 1970.
- HAYMAN, D.S.; TAVARES, M. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. XV. Influence of soil pH on the efficiency of different endophytes. *New Phytol.* v. 100, p. 367-377. 1985.
- HENDRIX, J.W., B.Z. GUO & Z.-Q. AN. Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems. In: H.P. Collins, G.P. Robertson & M.J. Klug (eds), *The significance and regulation of soil biodiversity*, Kluwer Academic Publishers. Netherlands. p. 131-140. 1995.
- HEPPER, C. M. Nutritional and biochemical studies of the fungi involved in vesicular-arbuscular mycorrhiza. Thesis (Ph.D.) - University of London, London. 1979. p. 252
- HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil.* v. 237, p. 173–195. 2001.
- HODGE, A. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. 2000. *FEMS, Microbiology Ecology*, Amsterdam, v. 32, n. 2, p. 91-96. 2000.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley. Agric. Exp. Stn., Univ. of California 1950. p.347
- ICOZ, I., AND G. STOTZKY. Cry3Bb1 protein from *Bacillus thuringiensis* in root exudates and biomass of transgenic corn does not persist in soil. *Transgenic Research* v.17, p. 609-620. 2008a.
- ICOZ, I.; AND G. STOTZKY. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry* v. 40, p. 559-586. 2008b.

- INVAM. International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Disponível em: <<http://www.invam.caf.wvu.edu>>. (Acesso: Julho 2015).
- ISAAA - International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. Brief, n. 17: Genetic Engineering and GM Crops. ISAAA: Ithaca, NY. Disponível em: <http://isaaa.org/resources/publications/pocketk/17/default.asp> Acesso em: 12 Nov. 2014.
- JAMES, C. Global status of Commercialized biotech/GM Crops: 2008. ISAAA Briefs, p. 39.
- JARAMILLO, D. La ciencia del suelo. Ed. Universidad Nacional sede Medellín. 2011. 613 p.
- JASPER, D. A.; ABBOTT, L. K.; ROBSON, A. D. Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, Cambridge, v. 112, n. 1, p. 93-99. 1989.
- JEFFRIES, P.; GIANINAZZI, S.; PEROTTO, S.; TURNAU, K. & BAREA, J. M. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology & Fertility of Soils* v. 37, p. 1-16. 2003.
- JEFWA, J.M.; R. SINCLAIR & J.A. MAGHEMBE. Diversity of glomales mycorrhizal fungi in maize/sesbania intercrops and maize monocrop systems in southern Malawi. *Agroforestry Systems* v. 67, p. 107-114. 2006.
- JOHNSON, N. C. Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? *Ecological Applications*, Tempe, v. 3, n. 4, p. 749-757. 1993
- KAEPLER, S.M.; PARKE, J. L.; MUELLER, S.M.; SENIOR, L., STUBER, C.; TRACY, W.F. Variation among maize inbred lines and detection of quantitative trait loci for growth at low phosphorus and responsiveness to arbuscular mycorrhizal colonization. *Crop Sci.* v. 40, p. 358–364. 2000.

- KHALIL, S.; T.E. LOYNACHAN & M.A. TABATABAI. Mycorrhizal dependency and nutrient uptake by improved and unimproved corn and soybean cultivars. *Agronomy Journal* v. 86, p. 949-958. 1994.
- KELEMAN, A.; HELLIN, J.; BELLON, M. R. Maize diversity, rural development policy, and farmers practices: lessons from Chiapas, Mexico. *The Geographical* . v.175, n.1, p.52-70. 2009.
- KENNEDY, A. C.; SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and soil*, Hague, v. 170, p. 75-86. 1995.
- KENNEDY, A. C. Microbial diversity in agroecosystem quality. In: COLLINS, W.W., QUALSET, C.O. (Ed.). *Biodiversity in Agroecosystems*. Boca Raton: CRC Press. 1999. p.1- 17.
- KIST, V.; OGLIARI, J.B.; MIRANDA FILHO, J.B.; ALVES, A.C. Genetic potential of a maize population from Southern Brazil for the modified convergent divergent selection scheme. *Euphytica*, v. 176, p. 25-36. 2010.
- KIVLIN, S. N.; HAWKES, C. V.; TRESEDER, K. K. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol Biochem*. v. 43, p. 2294-2303. 2011.
- KOIDE, R.T.; MOSSE, B. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*. v. 14, p. 145–163. 2004.
- KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycol. Res*. v. 92, p. 486-488. 1989.
- KUHNEN, S.; DIAS, P. F.; OGLIARI, J. B.; MARASCHIN, M. Brazilian Maize Landraces Silks as Source of Lutein: An Important Carotenoid in the Prevention of Age-Related Macular Degeneration. *Food and Nutrition Sciences*, v. 3, p. 1609-1614, 2012.
- LAMBAIS, M. R. Regulation of plant defense-related genes in arbuscular mycorrhizae. In: Podila, G.K., Douds, D.D. (Eds.), *Current Advances in Mycorrhizae Research*. American

- Phytopathological Society Press, St. Paul, Minneapolis. 2000. 46–60. pp.
- LEAL, P. L.; STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Occurrence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trap cultures from soils under different land use systems in the amazon, Brazil. *Brazilian J. Microbiol.* v.40, p. 111–121. 2009.
- LEGENDRE, P. & LEGENDRE, L. *Numerical Ecology*, 2nd English ed. Elsevier, 1998. 853 pp.
- LOREAU, M.; NAEEM, S.; INCHAUSTI, P.; BENGTSSON, J.; GRIME, J. P.; HECTOR, A.; WARDLE, D. A. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science* (New York, N.Y.), v. 294, n. 5543, p. 804-8. 2001. doi:10.1126/science.1064088
- LYNCH, J. M. & WHIPPS, J. M. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant Soil*.v. 129, p. 1-10. 1990.
- MACHADO, C. T. T. & PATERNIANI, M. L. S. Origem, domesticação e difusão do milho. In: SOARES, A.C. et al. *Milho crioulo: conservação e uso da biodiversidade*. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1998, 185p.
- MARSCHNER, H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2 ed. Academic Press, London. 1995. 889 pp.
- MARSCHNER, H. Role of root growth, arbuscular mycorrhiza, and root exudates for the efficiency in nutriente acquisition. *Field Crops Res.* v.56, p. 203–207. 1998.
- MATHIMARAN, N., R. RUH, B. JAMA, L. VERCHOT, E. FROSSARD & J. JANSÁ. Impact of agricultural management on arbuscular mycorrhizal fungal communities in Kenyan ferralsol. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. v. 119, p. 22-32. 2007.
- McGONIGLE, T. P.; EVANS, D. G.; MILLER, M. H. Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus

- absorption by maize in growth chamber and field experiments. *New Phytologist*, Cambridge, v. 116, n. 4, p. 629-636. 1990a.
- MCGONIGLE, T. P.; MILLER, M. H.; EVANS, D. G.; FAIRCHILD, G. L.; SWAN, J. A. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytol.* v. 132, p. 127-133. 1990b.
- MARTINS, M. A. & CRUZ, A. F. The role of the external mycelial network of arbuscular mycorrhizal fungi: III. A study of nitrogen transfer between plants interconnected by a common mycelium. *Microbiol.* v.29, p. 289-294, 1998.
- MIRANDA, A. R.; DUARTE, J. O.; GARCIA, J. C. Sistema de produção – Cultivo do milho. Sete Lagoas. Empraba Milho e Sorgo. 8ª edição Out./2012.
- MIYASAKA, S. C. & HABTE, M. Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. *Communications in Soil Science and Plant Analysis.* v. 32, p. 1101-1147. 2001.
- MOORA, M.; BERGER, S.; DAVISON, J.; ÖPIK, M.; BOMMARCO, R.; BRUELHEIDE, H.; KÜHN, I.; KUNIN, W. E.; METSIS, M.; RORTAIS, A.; VANATOA, A.; VANATOA, E.; STOUT, J. C.; TRUUSA, M.; WESTPHAL, C.; ZOBEL, M.; WALTHER, G. R. Alien plants associate with widespread generalist arbuscular mycorrhizal fungal taxa: evidence from a continental-scale study using massively parallel 454-sequencing. *J Biogeogr* v. 38, p. 1305-1317. 2011.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras. 2006.
- MOREIRA F. M. S.; BIGNELL, D.; HUISING, J. (EDS) Handbook of tropical soil biology: sampling and characterization of below-ground biodiversity. Earthscan, London, 2008. p. 17–42.
- MORTON, J. B.; BENTIVENGA, S. P.; WHEELER, W. W. Germplasm in the International Collection of Arbuscular and Vesicular arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) and

procedures for culture development, documentation, and storage. *Mycotaxon*, v.48, p.491- 528. 1993.

MORTON, J. B.; BENTIVENGA, S. P.; BEVER, J. D. Discovery, measurement, and interpretation of diversity in arbuscular endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes). *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v. 73, n. 1, p. 25-32. 1995.

MOUGI, A. & KONDOH, M. Diversity of interaction types and ecological community stability. *Science (New York, N.Y.)*. v. 337, n. 6092, p. 349-51. 2012. doi:10.1126/science.1220529

MULLA, M. S.; FEDERICHI, B. A.; DARWAZEH, H. A. Larvicidal effect of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 against stagnant-water mosquitoes and its effect on non-target organisms. *Environ Entomol.* v. 11, p. 788-95. 1982.

NASS, L. L.; PATERNIANI, E. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 581-587. 2000.

OEHL, F.; SIEVERDING, E.; INEICHEN, K.; MÄDER, P.; BOLLER, T. & WIEMKEN, A. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* v. 69, p. 2816-2824. 2003.

OEHL, F.; SIEVERDING, E.; MÄDER, P.; DUBOIS, D.; INEICHEN, K.; BOLLER, T. & WIEMKEN, A. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*. v.138, p. 574-583. 2004.

OEHL, F.; SIEVERDING, E.; INEICHEN, K.; RIS, E. A.; BOLLER, T. & WIEMKEN, A. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytologist*. v. 165, p. 273-283. 2005.

OEHL, F., E. LACZKO, A. BOGENRIEDER, K. STAHR, R.BÖSCH, M.VAN DER HEIJDEN, AND E. SIEVERDING. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular



- mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry* v.42, n. 5, p. 724-738. 2010.
- OKSANEN, J.; BLANCHET, F.G.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H. & WAGNER, H. Package 'vegan'. R Packag. ver. 254, p. 8-20. 2013.
- OLIVEIRA, C. A.; SA, N. M. H.; GOMES, E. A.; MARRIEL, I. E.; SCOTTI, M. R.; GUIMARAES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C. Assessment of the mycorrhizal community in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) genotypes contrasting for phosphorus efficiency in the acid savannas of Brazil using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). *Applied Soil Ecology*, Amsterdam. v. 41, n. 3, p. 249-258, 2009.
- OLSSON, P. A. & WILHELMSSON, P. The growth of external AM fungal mycelium in sand dunes and in experimental systems. *Plant & Soil*. v. 226, p. 161-169. 2000
- ÖPIK, M.; MOORA, M.; LIIRA, J. & ZOBEL, M. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology*. v. 94, p. 778–790. 2006. doi: 10.1111/j.1365-2745.2006.01136.x
- PATERNIANI, E.; CAMPOS, M.S. Melhoramento de milho. In: BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: UFV, 1999. 817p.
- PÉREZ-LUNA, Y. D. C., ÁLVAREZ-SOLÍS, J. D., MENDOZA-VEGA, J., PAT-FERNÁNDEZ, J. M., GÓMEZ-ÁLVAREZ, R., & CUEVAS, L. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana. Botánica*. v. 69, n. 1, p. 46-56. 2012.
- PETERSON, E.A., KATZNELS H., COOK, F.D. Influence of chitin and myxobacters on numbers of actinomycetes in soil. *Can J Microbiol*. v. 11, p. 595–596.1965.

- READ, D. J.; H. K. KOUCHEKI, & T. HODGSON. Vesicular-arbuscular mycorrhizae in natural vegetation ecosystems. *New Phytol.* v. 77, p. 641-653. 1976.
- REDHEAD, J. F. Endotrophic mycorrhizas in Nigeria: Species of the Endogonaceae and their distribution. *Trans. Br. Mycol. Soc.* v. 69, p. 275-280. 1977.
- REDECKER, D.; SCHÜßLER, A.; STOCKINGER, H.; STÜRMER, S. L.; MORTON, J. B.; WALKER, C. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza.* v. 23, n. 7, p. 515-531 2013. DOI: 10.1007/s00572-013-0486-y.
- REIS, E. F.; CARNEIRO, M.A.C.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; ROTTA, D.A.; SOUSA, M.Y. Absorção de fósforo em doze genótipos de milho inoculados com fungo micorrízico arbuscular em solo de cerrado. *Ciência Rural.* v.38, p. 2441-2447, 2008.
- RILLIG, M. C., WRIGHT, S. F., NICHOLS, K. A., SCHMIDT, W. F. & TORN, M. S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant & Soil.* v. 233, p. 167-177. 2001.
- RILLIG, M. C. & MUMMEY, D. L. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist.* v. 171, p. 41-53. 2006.
- ROSENDAHL, S. Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist.* v. 178. p. 253–266. 2008. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02378.x
- ROSSIELLO, R. O.; NETTO, J. Toxidez de alumínio em plantas: novos enfoques para um velho problema. In: FERNANDES, M. S. (editor). *Nutrição mineral de plantas.* Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006. p. 375-418.
- SANTOS, F. E. F.; CARRENHO, R. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em remanescente florestal impactado (Parque Cinquentenário - Maringá, Paraná, Brasil). *Acta Botanica Brasilica, São Paulo.* v. 25, n. 2, p. 508-516. 2011.

- SASVÁRI, Z. & POSTA, K. Effect of different plant densities on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi community in a long-term maize monocrop system. *Spanish Journal of Agricultural Research*. v. 8, p. 123-130. 2010.
- SAXENA, D. & STOTZKY, G. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. *Soil Biology & Biochemistry*. v. 33, p. 1225–1230. 2001.
- SAXENA, D. & STOTZKY, G. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic Bt corn in vitro and in situ. *FEMS Microbiology Ecology*. v. 33, p. 35-39. 2000.
- SCHENCK, N.C. & SMITH, G.S. Responses of six species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their effects on soybean at four soil temperatures. *New Phytol.* v. 92, p. 193-201. 1982.
- SCHENCK, N.C.; PÉREZ, Y. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. 3rd ed. Gainesville: Synergistic, 1990. p. 286.
- SCHERER, E., NESI, C. N. Características químicas de um Latossolo sob diferentes sistemas de preparo e adubação orgânica. *Bragantia*. v.68, n.3, p.715-721. 2009.
- SCHMITZ, P. I. Pré-história do Rio Grande do Sul. São Leopoldo: Unisinos, 1991. p. 31-66.
- SCHUBERT, A. & HAYMAN, D. S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XVI. Effectiveness of different endophytes at different levels of soil phosphate. *New Phytol.* v. 103, p. 79-90. 1986.
- SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A. new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. v. 105. p. 1412-1421. 2001.
- SCHÜßLER, A.; WALKER C. The Glomeromycota: a species list with new families and genera. Royal Botanic Garden Edinburgh, The

Royak Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich y Oregon State University. 2010. 56 p.

SERRALDE O.; A. M. & M. M. RAMÍREZ G. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. Revista Corpoica. v. 5, n. 1, p. 31-40. 2004.

SIEVERDING, E. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Eschborn, Germany: GT Z. 1991. 371p.

SIEVERDING, E. Manipulation of indigenous VAM fungi through agronomic practices. In: Sieverding E. (ed.). *Vesicular arbuscular management in tropical agrosystem* Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), Eschborn, 1991. p.117-165.

SIQUEIRA, J. O.; MAHMUD, A. W.; HUBBELL, D. H. Comportamento diferenciado de fungos formadores de micorrizas vesicular-arbuscular em relação à acidez do solo. Rev. Bras. Ciência Solo. v. 10, p. 11-16. 1986.

SIQUEIRA, J. O.; NAIR, M. G.; HAMMERSCHMIDT, R.; SAFIR, G. R. Significance of phenolic compounds in plant-soil microbial systems. CRC Crit. Rev. Plant Sci. v.10, p. 63–121. 1991.

SILVA, G. A. Diversidade funcional de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de solos da Amazônia ocidental. Tese (Doutorado em Microbiologia do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2009. 107 p.

SKIPPER, H. D. & SMITH, G. W. Influence of soil pH on the soybean endomycorrhiza symbiosis. Plant Soil. v. 53. p. 559-563. 1979.

SMITH, S. E. & READ, D. J. Mycorrhizal symbiosis. 3<sup>a</sup> ed. London: Academic Press. 2008. p. 815.

SMITH, S. E.; SMITH, A. F.; JAKOBSEN, I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. Plant Physiol. v.133, p. 16–20. 2003.

- SOUZA, F. A.; de SILVA, I. C. L.; BERBARA, R. L. L. Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSARD, L. (Ed.). Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Lavras: Universidade Federal de Lavras. 2008. p. 483–536.
- STEINKELLNER, S.; HAGE-AHMED, K.; GARCÍA-GARRIDO, J. M.; ILLAANA, A.; OCAMPO, J. A. A comparison of wild-type, old and modern tomato cultivars in the interaction with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Mycorrhiza*, v. 22, n. 3, p. 189- 94. 2012.
- STÜRMER, S. L.; BELLEI, M. M. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the island of Santa Catarina, Brazil. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa. v. 72, p. 359-363. 1994.
- STÜRMER, S. L. Characterization of diversity of fungi forming arbuscular endomycorrhizae in selected plant communities. Ph.D. Dissertation, West Virginia University, Morgantown, USA. 1998. 103 p.
- STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em ecossistemas brasileiro. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSARD, L. (Ed.). Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Lavras: Universidade Federal de Lavras. 2008. p. 537–584.
- STÜRMER, S. L. & SIQUEIRA, J. O. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza*. v. 21, p. 255-267. 2011.
- STUTZ, J.C., & J.B. MORTON. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. *Canadian Journal of Botany*. v. 74, p. 1883-1889. 1996.

- SYLVIA, D. M. Activity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*. v. 20, n. 1, p. 39-42. 1988:
- TEDESCO, M. J. Análises de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre: UFRGS/ Faculdade de Agronomia, 1985. 188p.
- THOMÉ, V. M.; RADTKE, ZAMPIERI, S.; BRAGA, H. J.; PANDOLFO, C.; SILVA J.; VAMILSON P. D.; BACIC, I.; LAUS N. J.; SOLDATELI, D.; GEBLER, E, ORE, J. D.; ECHEVERRIA, L.; MATTOS, M.; SUSKI, P. P. Zoneamento Agroecológico e Socioeconômico de Santa Catarina . Florianópolis : Epagri, 1999, v.1000. p.1000. CD-ROOM.
- TRESEDER KK, CROSS A. Global distributions of arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecosystems*. v, 9, p. 305–316. 2006.
- TURRINI, A.; SBRANA, C.; NUTI, M. P. Development of a model system to assess the impact of genetically modified corn and aubergine plants on arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*. v. 266, p. 69–75. 2004.
- TURRINI A, GIOVANNETTI M. Arbuscular mycorrhizal fungi in national parks, nature reserves and protected areas worldwide: a strategic perspective for their in situ conservation. *Mycorrhiza* 22:81–97. 2012.
- VAN DER HEIJDEN, M. A. G.; KLIRONOMOS, J. N.; URSIC, M.; MOUTOGLIS, P.; STREITWOLF-ENGEL, R.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. & SANDERS, I. R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*. v. 396, p. 69-72. 1998.
- VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; BARDGETT, R. D.; VAN STRAALEN, N. M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*. v. 11, n. 3, p. 296-310. 2008.
- WRIGHT, D. P.; SCHOLES, J. D.; READ, D. J.; STEPHEN, A. European and African maize cultivars differ in their

- physiological and molecular responses to mycorrhizal infection. *New Phytol.* v. 167, p. 881–896. 2005.
- WRIGHT, S. F. & UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science* v. 161, p. 575-586. 1996.
- WRIGHT, S. F. & UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant & Soil.* v. 198, p. 97-107. 1998.
- WRIGHT, S. F.; STARR, J. L.; & PALTINEANU, I. C. Changes in Aggregate Stability and Concentration of Glomalin during Tillage Management Transition. *Soil Science Society of America Journal.* v. 63, N. 6, p. 1825-1829. 1999.
- YANG, H. S.; ZANG, Y. Y.; YUAN, Y. G.; TANG, J. J.; CHEN, X. Selectivity by host plants affects the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi: evidence from ITS rDNA sequence metadata. *BMC Evol Biol.* v. 12:50. 2012.
- YANG, W. Q.; GOULART, B. L. & DEMCHAK, K. The effect of aluminium and media on the growth of mycorrhizal and nonmycorrhizal highbush blueberry plant lets. *Plant and Soil.* v. 183, n. 2, p. 301-308. 1996.
- ZHANG ,Y.; GUI, L. D.; LIU, R. J. Survey of arbuscular mycorrhizal fungi in deforested and natural forest land in the subtropical region of Duijiangyan, southwest China. *Plan Soil.* v. 261, p. 257-263. 2004.



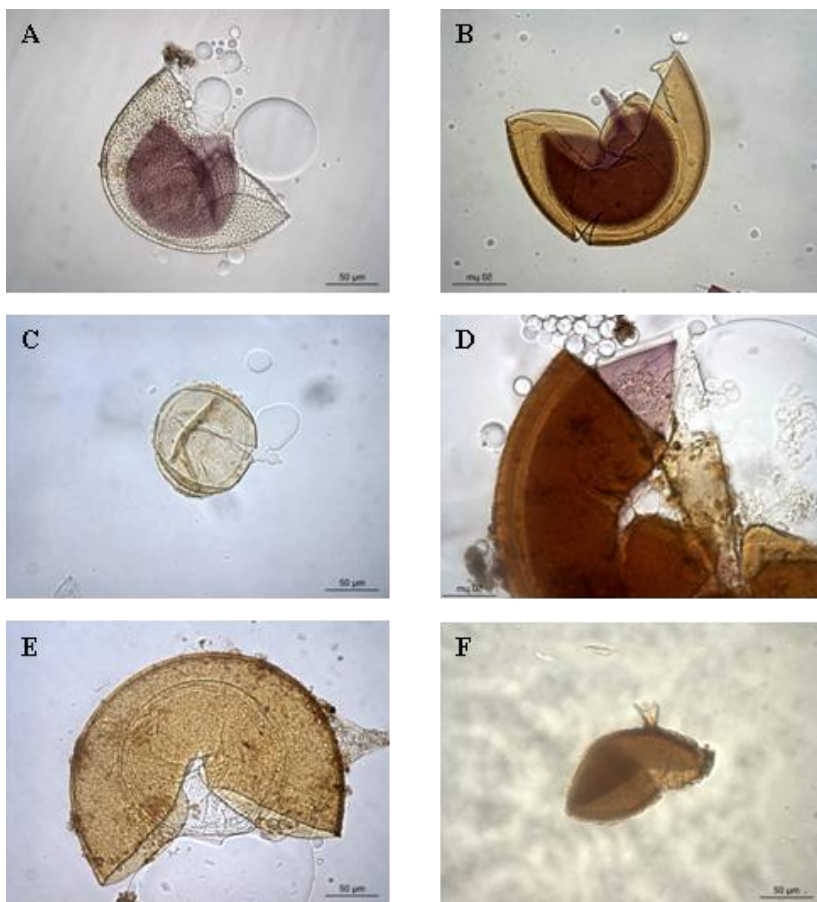


## APÊNDICES.

### Apêndice. A Dados gerais das propriedades (TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo).

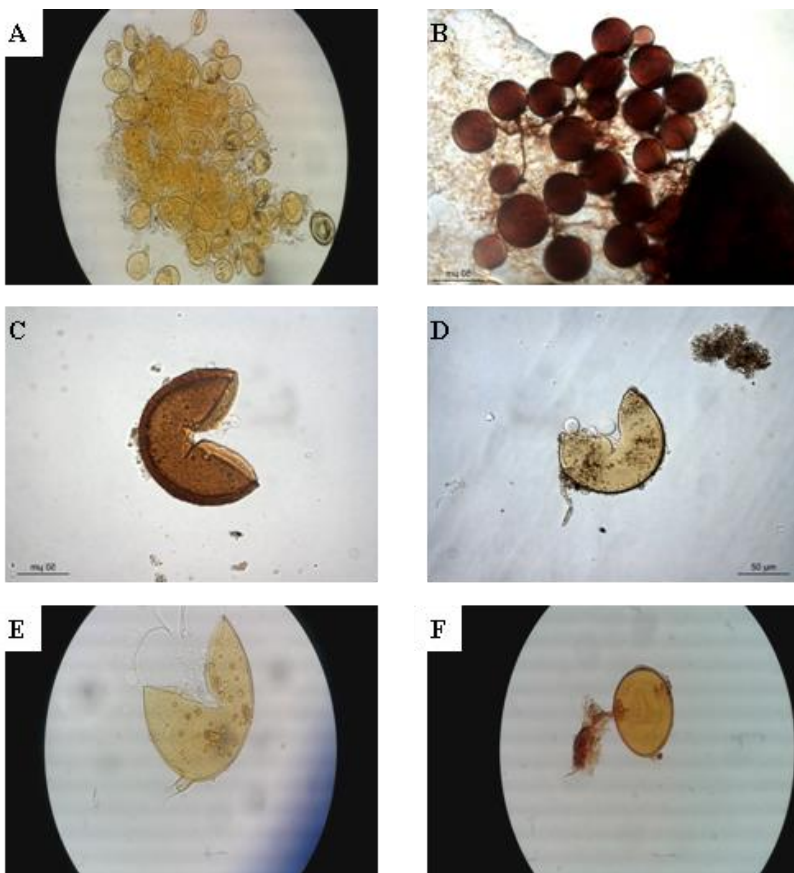
Código	Tipos de milho	Proprietário	Município	Linha	Área (Há)	Data de semeadura	Data de amostragem	Manejo do cultivo	Histórico das lavouras
TR1	Biomatrix 3061	Natalino Greggio	Bandeirantes	Getúlio Vargas	1,5	25-30 agosto	10 - 15 de Nov.	Secante glifosato, Lannate (inseticida); tie stall (fungicida)	Desde 2008
TR2	Biomatrix 3061	Natalino Greggio	Bandeirantes	Getúlio Vargas	1,5	25-30 agosto	10 - 15 de Nov.	Secante glifosato, Lannate (inseticida); tie stall (fungicida)	Desde 2008
TR3	Agroceres 5011	Raul Perdesseti	Bandeirantes	Getúlio Vargas	1,5	15/set	10-15 de Dec.	Secante glifosato; Prima Tox (inseticida)	Desde 2014
TR4	Biomatrix 3061	Valdir Pedersetti	Bandeirantes	Getúlio Vargas	1,5	25-30 agosto	10 - 15 de Nov.	Secante glifosato	Desde 2008
TR5	Syngenta Maxinus TLTG Vip.32	Divino Vacega	São Miguel do Oeste	Gramadinha	1	10/set	10-15 de Dec.	Secante glifosato	Desde 2014
CO1	Catarina SCS 155	Armando Schweizer	Anchieta	Café Filho	2	10/nov	10-15 de Feb.	Secante Argomix	Desde 1999
CO2	Catarina SCS 155	Armando Schweizer	Anchieta	Café Filho	2	10/nov	10-15 de Feb.	Secante Argomix	Desde 1999
CO3	Catarina SCS 155	Armando Schweizer	Anchieta	Café Filho	2	10/nov	10-15 de Feb.	Secante Argomix	Desde 1999
CO4	BR 106 Embrapa	Sanir Bedin	Barra Bonita	Alto caçador	5	15-20 outubro	10-15 de Jan.	Secante Gramocil e Glifosato; Primatox (inseticida)	Desde 2013
CO5	Santa Elena 5070	Vilmar Cella	Anchieta	Aparecida	1,5	15/set	10-15 de Dec.	Secante glifosato; Prima Tox (inseticida)	Desde 1983
CR1	Lingua de papagaio; palho roxa	Emilio Orlandini	Anchieta	São José	0,5	15-20 outubro	10-15 de Jan.		Desde 1964
CR2	Lingua de papagaio; palho roxa	Emilio Orlandini	Anchieta	São José	0,5	15-20 outubro	10-15 de Jan.		Desde 1964
CR3	Amarelhao; Maia	Valdemir Bucker	Romelândia	Vista Alegre	3	15/set	10-15 de Dec.		Desde 1945
CR4	Pixorum 5	Alencar Chenet	Anchieta	São Domingo	4	20-25 outubro	10-15 de Jan.	Secante Roundup	Desde 2006
CR5	Tacuara; Cunha	Ricardo De Andrade	São Miguel do Oeste	Caxias	0,5	5-15 novembro	10-15 de Jan.		Desde 2010

**Apêndice B.** Espécies de FMA identificadas em solo de campo em lavouras de milho do Oeste de Santa Catarina.



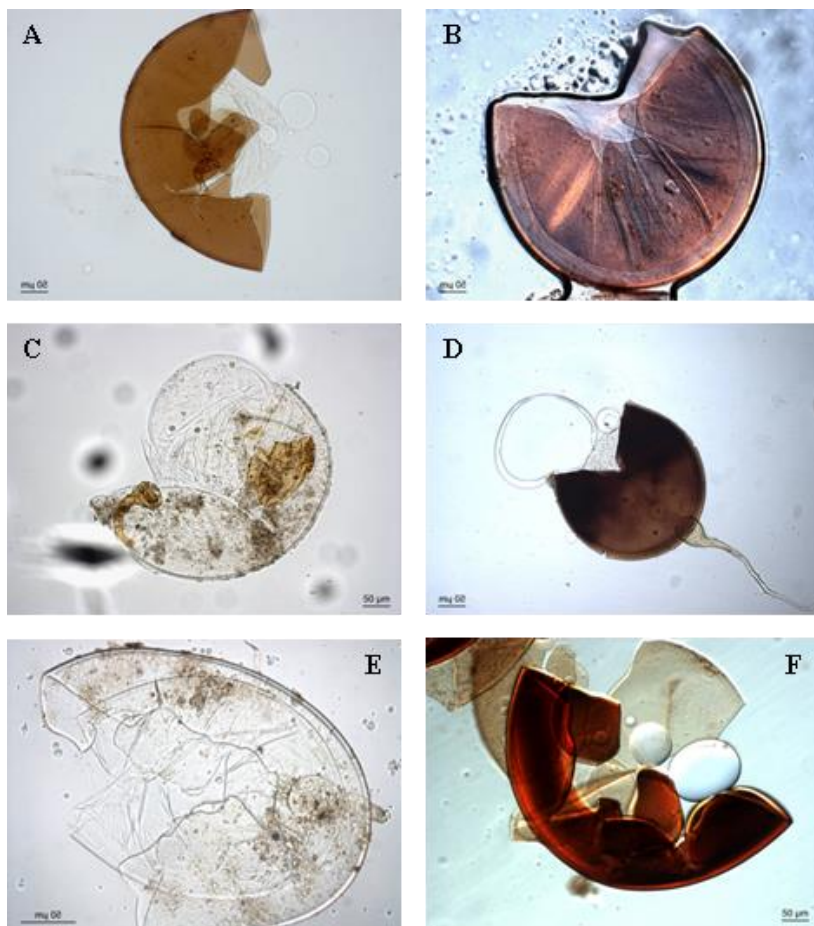
A. *Acaulospora scrobiculata*, B. *Acaulospora mellea*, C. *Acaulospora marrowiae*, D. *Acaulospora tuberculata*, E. *Acaulospora* sp1, F. *Entrophospora infrequens*

**Apêndice C.** Espécies de FMA identificadas em solo de campo em lavouras de milho do Oeste de Santa Catarina.



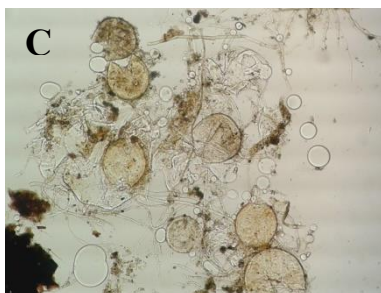
A. *Glomus aggregatum*, B. *Glomus microaggregatum*, C. *Glomus* sp1, D. *Glomus* sp2, E. *Glomus* sp3, F. *Glomus* sp4.

**Apêndice D.** Espécies de FMA identificadas em solo de campo em lavouras de milho do Oeste de Santa Catarina.



A. *Dentiscutata heterogama*, B. *Dentiscutata cerradensis*, C. *Dentiscutata scutata*, D. *Gigaspora descipiens*, E. *Cetraspora pellucida*, F. *Racocetra verrucosa*

**Apêndice E.** Espécies de FMA identificadas em solo de campo em lavouras de milho do Oeste de Santa Catarina.



A. *Diversispora* sp., B. *Archaeospora trappei*, C. *Rhizophagus intraradices*, D. *Gigaspora descipiens*, E. *Acaulospora foveata*

**Apêndice F.** Frequência absoluta das espécies de FMA em solo de campo.  
(TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo).

	TR	CO	CR
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	12	17	17
<i>Acaulospora mellea</i>	4	3	0
<i>Acaulospora morrowiae</i>	11	8	13
<i>Acaulospora tuberculata</i>	1	2	1
<i>Acaulospora sp1</i>	3	2	5
<i>Dentiscutata heterogama</i>	19	15	19
<i>Dentiscutata scutata</i>	3	4	4
<i>Dentiscutata cerradensis</i>	0	2	2
<i>Glomus aggregatum</i>	0	3	1
<i>Glomus microaggregatum</i>	7	3	3
<i>Glomus sp1</i>	21	23	22
<i>Glomus sp2</i>	19	16	21
<i>Glomus sp3</i>	5	13	9
<i>Glomus sp4</i>	3	5	5
<i>Cetraspora pellucida</i>	0	5	2
<i>Racocetra verrucosa</i>	0	1	1
<i>Gigaspora decipiens</i>	2	9	11
<i>Diversispora sp1,</i>	6	4	1
<i>Entrophospora infrequens</i>	0	0	2
<i>Archaeospora trappei</i>	2	3	6

**Apêndice G.** Frequência da ocorrência das espécies de FMA em solo de campo (TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo).

	TR (%)	CO (%)	CR (%)
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	48	68	68
<i>Acaulospora mellea</i>	16	12	0
<i>Acaulospora morrowiae</i>	44	32	52
<i>Acaulospora tuberculata</i>	4	8	4
<i>Acaulospora sp1</i>	12	8	20
<i>Dentiscutata heterogama</i>	76	60	76
<i>Dentiscutata scutata</i>	12	16	16
<i>Dentiscutata cerradensis</i>	0	8	8
<i>Glomus aggregatum</i>	0	12	4
<i>Glomus microaggregatum</i>	28	12	12
<i>Glomus sp1</i>	84	92	88
<i>Glomus sp2</i>	76	64	84
<i>Glomus sp3</i>	20	52	36
<i>Glomus sp4</i>	12	20	20
<i>Cetraspora pellucida</i>	0	20	8
<i>Racocetra verrucosa</i>	0	4	4
<i>Gigaspora decipiens</i>	8	36	44
<i>Diversispora sp1,</i>	24	16	4
<i>Entrophospora infrequens</i>	0	0	8
<i>Archaeospora trappei</i>	8	12	24

**Apêndice H.** Frequência absoluta das espécies de FMA em culturas armadilha (TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo).

	TR	CO	CR
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	0	2	4
<i>Acaulospora mellea</i>	1	0	2
<i>Acaulospora morrowiae</i>	0	3	2
<i>Acaulospora tuberculata</i>	1	0	0
<i>Acaulospora foveata</i>	0	1	0
<i>Acaulospora sp1</i>	2	0	1
<i>Dentiscutata heterogama</i>	1	3	0
<i>Dentiscutata scutata</i>	0	0	2
<i>Dentiscutata cerradensis</i>	0	0	0
<i>Glomus aggregatum</i>	0	1	3
<i>Glomus microaggregatum</i>	0	2	3
<i>Glomus sp1</i>	2	4	3
<i>Glomus sp2</i>	0	0	1
<i>Glomus sp3</i>	2	3	5
<i>Glomus sp4</i>	1	0	1
<i>Cetraspora pellucida</i>	1	1	1
<i>Racocetra verrucosa</i>	1	0	0
<i>Gigaspora decipiens</i>	0	1	3
<i>Gigaspora gigantea</i>	0	0	1
<i>Diversispora sp1,</i>	1	0	3
<i>Entrophospora infrequens</i>	1	0	1
<i>Archaeospora trappei</i>	0	3	1
<i>Rhizophagus intraradices</i>	0	1	3



**Apêndice I.** Frequência da ocorrência das espécies de FMA em solo de campo (TR: Transgênico, CO: Convencional, CR: Crioulo).

	TR (%)	CO (%)	CR (%)
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	0	40	80
<i>Acaulospora mellea</i>	20	0	40
<i>Acaulospora morrowiae</i>	0	60	40
<i>Acaulospora tuberculata</i>	20	0	0
<i>Acaulospora foveata</i>	0	20	0
<i>Acaulospora sp1</i>	40	0	20
<i>Dentiscutata heterogama</i>	20	60	0
<i>Dentiscutata scutata</i>	0	0	40
<i>Dentiscutata cerradensis</i>	0	0	0
<i>Glomus aggregatum</i>	0	20	60
<i>Glomus microaggregatum</i>	0	40	60
<i>Glomus sp1</i>	40	80	60
<i>Glomus sp2</i>	0	0	20
<i>Glomus sp3</i>	40	60	100
<i>Glomus sp4</i>	20	0	20
<i>Cetraspora pellucida</i>	20	20	20
<i>Racocetra verrucosa</i>	20	0	0
<i>Gigaspora decipiens</i>	0	20	60
<i>Gigaspora gigantea</i>	0	0	20
<i>Diversispora sp1,</i>	20	0	60
<i>Entrophospora infrequens</i>	20	0	20
<i>Archaeospora trappei</i>	0	60	20
<i>Rhizophagus intraradices</i>	0	20	60

**Apêndice J.** Tabela presença/ausência de espécies de FMA em solo de campo. (TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo).

Milho	Azadiopora scrobiculata	Azadiopora milles	Azadiopora noronhai	Azadiopora tuberculata	Azadiopora sp1	Denticulata heterogama	Denticulata scutata	Denticulata serradensis	Glomus aggregatum	Glomus microaggregatum	Glomus sp1	Glomus sp2	Glomus sp4	Glomus sp5	Ceratophora pellicida	Rhizoctonia verrucosa	Gigaspora decipiens	Diversiglossa sp1	Emmophysa infrequens	Archaeoglossa trappei
TR1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1
TR2	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1
TR3	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
TR4	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0
TR5	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0
CO1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0
CO2	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
CO3	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1
CO4	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1
CO5	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1
CR1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0
CR2	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1
CR3	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1
CR4	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1
CR5	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1

**Apêndice K.** Tabela presença/ausência de espécies de FMA em culturas armadilha. (TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo).

Milho	Azadiopora scrobiculata	Azadiopora milles	Azadiopora noronhai	Azadiopora tuberculata	Azadiopora sp1	Denticulata heterogama	Denticulata scutata	Denticulata serradensis	Glomus aggregatum	Glomus microaggregatum	Glomus sp1	Glomus sp2	Glomus sp3	Glomus sp4	Ceratophora pellicida	Rhizoctonia verrucosa	Gigaspora decipiens	Gigaspora giganta	Diversiglossa sp1	Emmophysa infrequens	Archaeoglossa trappei	Rhizoglyphus striatulus
TR1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
TR2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
TR3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TR4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
TR5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CO1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CO2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
CO3	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
CO4	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
CO5	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
CR1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
CR2	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
CR3	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0
CR4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0
CR5	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1

**Apêndice L.** Atributos físico-químicos do solo cultivado com de três tipos de milho (TR: Transgênico, CO: Híbrido convencional, CR: Crioulo).

Varievéis físico-químicas	TR1	TR2	TR3	TR4	TR5	CO1	CO2	CO3	CO4	CO5	CR1	CR2	CR3	CR4	CR5
pH em H <sub>2</sub> O	5.18	4.82	5.76	4.92	5.38	5.74	5.6	5.52	5.5	5.3	5	5.44	5.8	5.7	5.6
Areia (g kg <sup>-1</sup> )	24.07	22.43	22.98	23.34	35.91	31.15	31.22	26.15	30.76	18.53	14.89	18.59	36.96	42.73	19.60
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	37.02	35.20	43.61	40.74	29.90	29.39	28.71	31.64	34.90	41.75	48.08	44.60	28.72	27.51	37.99
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	38.90	42.35	33.39	35.91	34.18	39.45	40.06	42.20	34.33	39.71	37.02	36.80	34.31	29.75	42.39
M.O. (g kg <sup>-1</sup> )	2.64	2.36	3.18	2.7	2.2	1.76	1.92	1.76	2.12	2.36	3.18	3.1	2.36	1.66	2.62
Da (Mg m <sup>3</sup> )	1.12	1.08	1.05	1.08	1.11	1.23	1.32	1.17	1.26	1.03	1.02	1.17	1.04	1.07	1.28
Presina (mg kg <sup>-1</sup> )	4.64	11.62	4.19	17.28	11.74	5.00	3.55	7.68	6.36	2.54	4.57	3.51	8.82	3.10	5.78
P Melich (mg dm <sup>-3</sup> )	10.5	17.14	14.1	37.22	22.08	41.2	12.92	24.44	13.26	12.52	10.4	11.98	26.28	21.72	13.9
K trocável (mg dm <sup>-3</sup> )	124.44	160.8	76	190.4	161.6	124	150.4	186.4	130.4	57.6	206.4	230.4	222.68	135.28	164.92
Altrocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0.44	0.48	0.04	1.24	0.36	0	0.16	0.08	0.28	0.46	1.1	0.38	0	0	0.1
Ca trocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	7.04	6.56	8.46	6.7	11.32	17.24	11.26	15.84	11.24	10.56	7.08	8.26	17.8	24.78	6.62
Mg trocável (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2.6	2.34	3.6	3.16	2.92	6.78	2.48	4.44	3.4	4.24	1.54	1.92	1.86	4.7	2.46
H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	3.92	6.67	2.81	7.18	3.98	3.64	3.87	4.31	3.21	4.07	4.76	4.78	4.93	3.33	4.28
CTC pH 7 (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	13.88	17.25	15.06	17.53	18.63	27.98	17.99	25.07	18.28	19.07	13.91	15.55	25.16	33.15	13.78